



Usage des rodenticides anticoagulants et conséquences en termes d'exposition et d'impact pour les populations de Renard roux

Marion Jacquot

► To cite this version:

Marion Jacquot. Usage des rodenticides anticoagulants et conséquences en termes d'exposition et d'impact pour les populations de Renard roux. Ecologie, Environnement. Université de Franche-Comté, 2013. Français. NNT : 2013BESA2028 . tel-01239154

HAL Id: tel-01239154

<https://theses.hal.science/tel-01239154>

Submitted on 7 Dec 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



USAGE DES RODENTICIDES ANTICOAGULANTS ET CONSEQUENCES EN TERMES D'EXPOSITION ET D'IMPACT POUR LES POPULATIONS DE RENARD ROUX



Marion Jacquot
2013

2013

UNIVERSITE DE FRANCHE-COMTE
U.F.R. DES SCIENCES ET TECHNIQUES
Laboratoire Chrono-Environnement (UMR CNRC/UFC 6249, Usc INRA)

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE FRANCHE-COMTE
Spécialité : Sciences de la Vie et de l'Environnement
Ecole doctorale : Environnements - Santé

Soutenue le 08 novembre 2013

USAGE DES RODENTICIDES ANTICOAGULANTS ET CONSEQUENCES EN TERMES D'EXPOSITION ET D'IMPACT POUR LES POPULATIONS DE RENARD ROUX

par

Marion JACQUOT

Composition du jury :

Jean-François COSSON (Directeur de Recherche, INRA, Montpellier) Rapporteur

Christian MOUGIN (Directeur de Recherche, INRA, Versailles) Rapporteur

Patrick GIRAUDOUX (Professeur HDR, Université de Franche-Comté, Besançon) Directeur

Michaël COEURDASSIER (MCF, Université de Franche-Comté, Besançon) Co-encadrant

Philippe BERNY (Professeur, VetagroSup, Campus Vétérinaire de Lyon) Examinateur

Olivier GILG (Chercheur libre, Université de Bourgogne, Dijon) Examinateur

Remerciements

Je remercie sincèrement Jean-François Cosson et Christian Mougin (tous 2 rapporteurs) ainsi que Philippe Berny et Olivier Gilg (tous 2 examinateurs) d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Je remercie également les financeurs de ces travaux. Ce travail s'inscrit dans le programme de recherche Rodent ; programme financé par l'Agence Nationale de la recherche (Agrément n°2009CESA00801). Cette thèse a par ailleurs reçu le soutien financier de la région de Franche-Comté à travers une allocation doctorale de 3 ans. Merci également à l'Ecole doctorale Environnements - Santé du PRES Bourgogne-Franche-Comté pour les dispositifs de formation et de soutien à la mobilité dont elle fait bénéficier les doctorants.

Ce mémoire fait l'objet d'un sujet qui a « trainé ses gaules » (si vous me permettez l'expression) dans 2-3 granges de Haute-Saône et pâtures du Haut-Doubs, qui a profité de quelques séjours dans « le Sud » (Marcy l'Etoile) et qui s'est même aventuré un peu dans l'Nord (Nancy et Stuttgart). Ce sujet a donné à penser à quelques cerveaux occupant ainsi et parfois l'intégralité des journées des personnes abritant ces cerveaux. C'est un sujet où, quand on regarde les plats sur la table, on se croit en Chine ou dans un bouchon à Lyon ; il y a de la cervelle mais aussi des tripes. Des tripes...parce qu'on y ramasse des crottes de « r'naard » et qu'on y dissèque ou mouline des « mulots » (attention à prononcer un « o » ouvert). Des tripes aussi et surtout...parce que j'ai eu la chance de travailler avec des personnes convaincues et passionnées. Or, il est temps, et j'en suis ravie, de remercier les personnes impliquées de près ou de loin dans ce sujet ou autrement dit de remercier les personnes qui ont eu « affaire à moi » ces dernières années.

Patrick Giraudoux a dirigé ce travail et Michaël Coeurdassier l'a co-encadré. Quand je parle de tripes je pense notamment à eux et, bien sûr, pas seulement parce qu'ils sont grands amateurs de ce genre de victuailles ! Michaël et Patrick m'ont donné l'exemple d'une recherche « en action » où il s'agit de comprendre le contexte « économique-socio-environnemental » d'un problème, d'en tirer les implications scientifiques et de penser des programmes de recherche pour travailler sur la question. Je les remercie de m'avoir fait profiter de tout ce qu'ils ont tissé autour de la problématique « rongeurs / anticoagulants » (connaissances et expériences acquises, sources de financements et réseaux de partenaires établis) et pour la place qu'ils m'ont laissée y faire. Ces années n'auraient par ailleurs pas été les mêmes sans la convivialité qu'ils ont instaurée autour de ce travail ; une plaisanterie sur nos mœurs haut-saônoises communes n'était jamais bien loin !

Isabelle Fourel m'a encadrée de près sur les aspects analytiques de ce travail. Que d'heures à extraire, mouliner, peser, calibrer, passer / repasser des échantillons, valider les dosages... l'analyse chimique des « tripes » de campagnols et de renard eut des aspects parfois gargantuesques ! Organisation, rigueur, « relevage de défi » (« Allez, demain on essaye de passer 4 séries de 12 ! ») et « nouvelles lyonnaises » ont fait de ce travail un plaisir. J'ai par ailleurs appris que les machines sont loin d'être systématiques ; l'obtention de résultats demande parfois des compétences de mécano et comprendre le fonctionnement de « ces animaux » impose parfois une approche un peu écologique (e.g. prise en compte des conditions climatiques).

Remerciements

J'ai eu la grande chance de pouvoir toujours compter sur un appui lors de l'échantillonnage et de la préparation des échantillons en la personne d'Antoine Dervaux puis d'Anne-Laure Parmentier. Merci à vous 2 ; pour votre organisation et votre efficacité exemplaires (l'un était peut-être à peine plus organisé que l'autre mais on ne citera pas de nom) et parce que votre travail avait des aspects répétitifs et pas toujours ragoûtants (le tube digestif mouliné sent parfois le foin mais assez rarement...et la crotte de renard et la carcasse de mulot, eux, ne sentent JAMAIS le foin). Merci aussi pour votre amitié et vos boutades (ô que oui !) sans pareilles.

Merci à Francis Raoul, qui a participé à la rédaction du projet sur lequel j'ai travaillé, qui a suivi et participé à mes travaux en y apportant son point de vue ou...une bouteille de vin. Merci à Dominique Rieffel et Jean-Claude Lambert pour leur aide technique agrémentée (notamment) de commentaires musicologiques pour le premier et naturalistes pour le deuxième.

Merci à Marlène, Sylvie et Brigitte pour leur efficacité dans leur travail de gestion financière et administrative. Merci à Jean-Daniel et Charles-Henri qui se décarcassent pour combler nos lacunes informatiques.

Merci à Hervé Richard, Daniel Gilbert ainsi qu'à l'ensemble des équipes de direction du laboratoire pour l'énergie qu'ils ont déployé et/ou déploient encore pour faire rouler la machine « Chrono-Environnement ».

A la bande de joyeux thésards : Claire, Coralie, Jérémy, Séverine, Pierline, Totor l'émRveillé (**les conscrits d'inscription**), Anne, Axelle, le Bèbert de Valdahon (qui nous a supporté un temps Séverine et moi), Benjamin, Fab et PE les p'tits bourgeons, Leslie, le Nico Tête, Steffi, Zeinaba (**ceux d'avant, ceux qui suivent**). Mention spéciale pour Séverine, éternelle binôme et coloc de bureau, avec qui j'ai eu « quelques » échanges ces dernières années : sur les trucs et astuces informatiques, sur les dissections de mulot,...sur le fait que l'orange c'est la santé, que les zinzins de l'espace sont parmi nous,...

A Clem et Renaud grâce à qui j'ai appris avoir coché à Milan le Moineau cis-alpin mais aussi, et surtout, la question de Richard Shore...A Cathy qui s'inquiète toujours de « si ça va ». A Eve pour ses conseils scientifiques, pédagogiques et pour son aide sur le terrain. Merci à tous les autres membres du laboratoire qui font de Chrono-Environnement ; en particulier de la place Leclerc, un lieu vivant. A Anne-Claude, Anne-Sophie, Annette, Badr, Bruno, Caroline, Claire, Coline, Fabienne, Fred, Geoffroy, Grégo, Jean-Claude, Julien, Lotfi, Martine, Nadia, Nicolas, Raphaël,...

Merci à Mickaël Sage, disciple de la religion « AVK / rongeurs » avant moi, il a rédigé « la bible » en 2008 et est toujours disponible, pour « causer » d'un sujet qu'il est loin d'avoir mis de côté et cela malgré la diversification de ses travaux. Rongeurs et renards ont en effet été rejoints (entre autres) par les sangliers, les mésanges et les chevreuils.

Philippe Berny m'a accueillie au sein de l'ancien « laboratoire de toxicologie de Lyon ». Il m'a sympathiquement apportée son éclairage dès que nécessaire. Merci par ailleurs à toutes les personnes de l'ENVL : à Danièle qui eu eu entre les mains « quelques-uns » de mes échantillons, à Julie, Alex, Raphaël, Aurélien, Florian, Etienne...qui m'ont conseillé (non sans quelques boutades) dès que j'en avais besoin.

Remerciements

Merci aux étudiants qui ont travaillé de près ou de loin sur le sujet : Lucie Caillet, Julia Dolhem, Pierre Caillis, Julie Montaz, Romain Perdrix et Yves Prat-Mairet.

Je remercie également « l'équipe campagnols » de la FREDON de Franche-Comté ; Geoffroy Couval, Maryline Fontanier et Herminie Piernavieja qui collectent les données sur les traitements à la bromadiolone et m'ont toujours renseignée, et qui s'investissent pour que la lutte contre le Campagnol terrestre évolue vers des pratiques plus intégrées.

Merci à Denis Truchetet, expert national « vertébrés nuisibles » (Ministère de l'agriculture, *de* l'agroalimentaire et de la Forêt) qui est hébergé en Franche-Comté et suit de près la lutte contre le Campagnol terrestre. J'ai ainsi pu (richement) échanger avec lui sur les aspects notamment réglementaires de la lutte contre les rongeurs.

Merci à la Fédération des Chasseurs du Doubs ; en particulier à Régis Renaude. Je salue notamment la démarche de cette association qui consiste à gérer les espèces gibiers en s'appuyant sur des données récoltées dans le cadre de suivis standardisés ; suivis qu'elle met elle-même en oeuvre avec l'appui de l'Université.

Je remercie Betty Plaquin de l'ONCFS du Doubs avec qui j'ai pu échanger sur le SAGIR.

Je remercie également Jacques Barrat ainsi que les animaliers du centre expérimental d'Atton qui m'ont permis de découvrir « l'univers » de l'expérimentation animale.

Merci à Benoît Combes, Vincent Ratton et Sébastien Comte de l'E-L-I-Z pour leur aide lors des collectes de fèces et pour les « affûts » de fin de journée.

Merci à David Pleydell qui a apporté son soutien statistique et linguistique lors de la rédaction de l'article pour Journal of Applied Ecology. Ce fut également l'occasion pour moi d'apprendre quelques mots de chinois...

Merci à Anke Dinkel du laboratoire de parasitologie d'Hohenheim qui a assuré l'analyse génétique des fèces de renard.

Merci aux habitants et aux paysans des communes échantillonnées qui nous ont transmis les informations sur les traitements rodenticides réalisés et qui nous ont permis de poser des tapettes dans leur grange, leur hangar ou leur jardin,...ou de poser des topcats dans leurs parcelles. Merci à la fromagerie d'Aboncourt-Gésincourt qui nous a également ouvert ses portes pour l'échantillonnage de rongeurs. A tous ceux qui nous ont proposé de « boire un jus », de « vn'ir manger au chaud », qui nous ont gardé des mulots en bocal,...Et puis un merci particulier à ceux de la Ludore, aux Laillet, à Arnaud ; aux Garret (pour n'oublier personne), c'est agréable de croiser la famille quand on relève des tapettes à souris !

Merci aux agriculteurs qui expérimentent pour faire évoluer la lutte contre le Campagnol terrestre : notamment les agriculteurs de la CLAC et de la ZELAC (que j'ai eu le plaisir de rencontrer pour certains) ainis qu'à Fabrice Cuenot, président de la FREDON.

Remerciements

Merci à Patrick Giraudoux et à Li Li pour m'avoir fait profiter d'une mission dans l'Empire du milieu. Merci à Li Li également pour son aide sur le terrain où elle a rapidement appris le vocabulaire nécessaire au bon déroulement des opérations : « plus vite ! », « ensuite ! », « la conjecture économique », « Voaaala ! »,..

Merci à ceux qui suivent le sujet parce qu'ils suivent ce que je fais, ce que je deviens, parce qu'ils habitent sous mon toit ou parce qu'ils m'amènent des pommes des vergers de Haute-Saône :

Aux colocs : à la Nath herpéto-détective spécialiste ès galettes ès gratins dauphinois ès opéra du soir, au Micka Sage chasseur de limace hors paire grâce à sa vue et sa force lactose-boustées et à (milliards de sacs !) l'Anne-Laure chiroptéro-cosmologue boustée de l'oreille. A Totof qu'on accepte volontiers à la coloc surtout avec une tarte. A Ced et Marielle qui nous ont fait un p'tit Marius qui, nourri aux plantes mazerolaises, grandit comme un charme. A Phil qui détecte (depuis le sol) un pipit des arbres en migration à 400 m d'altitude et à la Minette. A Doudou (Antoine) le nomade, un peu coloc des fois, et présentement parti dans l'hémisphère sud où il alterne entre dorage et gel de pillule. Merci aussi, Doudou, pour les photos de r'naaard...mises à profit dans ce manuscrit. A Mimi, Michel, le blaireau des steppes à la truffe fragile.

A Lucie Couton (*alias Lucy bonzaï*) qui déclara le 11 janvier de l'an 2013 : « Le possible, on peut le faire, l'impossible on peut essayer, pour les miracles, laissez-nous un délai. Allez, gère bien la souris ! ». A Lise, femme de conviction et d'action écologique, dealeuse de médoc pour le transit. A Margaux, pile haute tension qui énerveille les rues doloises et les forêts du Jura. A Elie, prof ès pêche de poissons gros calibre de rivières de banlieue. A Cathy et sa méthode écolo d'éradication de rats (et de toilettes non sèches). A Toif qui a déjà cavallé tant et plus pour les filles Jacquot. A Aurore la boulangère, Anna la jardinière, Cécile la guerrière, Claire la bergère, Claire et Lolo les bergers sans terre, Dodo la 2^e guerrière, Fanny la fleunettrière, Marie la pepsi-toujours-partante-ière, Sarah la pâtissière, Toussaint qui pétrit à Cornot ce qu'ils semèrent,...

Aux meufs meufs meufs et mecs mecs mecs chacos : ces **rusés** danseurs et leurs « pia, pia-pia, **PIA-PIA** !. » : Camille, Claire B, Clairotus, Clarou, Jamb, La Nath, Laora, Lison, Lola, Marine, Margot, Morgy, PF, Orane, Victor, Yelena. Aux chanteurs non moins **rusés** de l'atelier chanson : Adeline, Framboise, Lise, La Nath, Lucette, Sylvie, Nanou,...

A la grande famille Garret-Mariotte et à la plus petite famille Jacquot-Joly, à ces 1000 instants génalogiques.

A Manou qui me raconte ces instants génalogiques de quand «j'étais pas née» ou de quand «j'me rappelle pu».

A mes frangines, ces brins de femme au caractère bien trempé, qui me serrent bien volontiers le(s) coude(s). A Perrine, bien occupée en tant que voyageuse franc-comtoise au long cours, mais qui pense toujours à ce que j'oublie : «- Hé Martine, tu sais s'que tu t'mets pour ton oral ? » « - Ah...non. ». A Juliette qui, « avec son air de n'pas y toucher », capte un paquet de trucs...

A Edith et Bernard, qui, à la Bouloye Jolie, ont fait pousser et font encore pousser (conversion AB en cours) des agneaux, des filles (Perrine, Manon et Juliette), des salades et des patates. A *Mum* pour son soutien rapproché par sms. A *Vati* pour ses cours de prophylaxie.

« *Ceux qui savent cultiver la terre s'en tireront toujours.* » Pierre Rabhi.

« Il est allé guetter le renard. Ca se fait avec beaucoup de silence et peu de gestes. On se cache en collines et on écoute. Si on sait lire dans les bruits de l'air on apprend qu'il couche là, qu'il va de là à là, qu'il cherche les cailles, qu'il suit les perdreaux. »

extrait de Regain de Jean Giono

« Ses yeux obliques, sa face ronde de chat, son museau aigu expriment admirablement la malice, tandis que le dessin descendant de l'arcade sourcillière, deux plis verticaux soucieux à la racine du nez, lui donnent cet air pleurard sous lequel tant d'hypocrites dissimulent leurs réussites. Ajoutez à cela le trait relevé en un sourire sarcastique, de la commissure des lèvres bordées de noir, la tache noire descendant du larmier pour s'arrêter derrière la moustache et qui semble des pleurs mal séchés : vous avez là une magnifique figure de fourbe. »

extrait de Mammifères sauvages d'Europe de Robert Hainard



Photo A. Dervaux



Worst Wurst – Rat Shit Miniature Installation by Slinkachu



www.nichtlustig.de

I. Introduction générale.....	1
I.1. Les pesticides dans le monde.....	3
I.2. Dommages causés par les rongeurs et enjeux de la lutte chimique	5
I.2.1. Dégâts matériels	5
I.2.2. Transmission des maladies.....	6
I.2.3. Espèces invasives.....	7
I.2.4. Pestes agricoles et forestières	7
I.3. La Lutte chimique : molécules et espèces cibles.....	9
I.3.1. Poisons foudroyants (phosphure de zinc, alphachloralose, cholecalciferol, bromethaline, gaz toxiques)	9
I.3.2. Les AVKs.....	10
I.3.3. Espèces de rongeurs cibles et usage des rodenticides anticoagulants	11
I.4. Réglementation de la lutte chimique.....	13
I.4.1. Définition des usages : biocide et phytopharmaceutique.	14
I.4.2. Evaluation des substances actives et autorisation de mise sur le marché (AMM)	15
I.4.3. Lutte intégrée contre les rongeurs	16
I.4.4. Suivi des effets environnementaux des rodenticides AVKs après leur mise sur le marché .	18
I.4.4.a. Surveillance de la vente et de l'utilisation des rodenticides AVKs	18
I.4.4.b. Surveillance des effets des rodenticides AVKs sur les populations non-cibles	18
I.5. Devenir des rodenticides anticoagulants dans l'environnement et impacts associés	20
I.5.1. Persistance des AVKs dans les appâts	20
I.5.2. Transfert aux êtres vivants : du rongeur au prédateur	21
I.5.2.a. Cinétique et métabolisme des AVKs dans les organismes.....	21
I.5.2.b. Une contamination généralisée des réseaux trophiques terrestres et notamment de ceux impliquant les rongeurs et leurs prédateurs.....	24
I.5.3. Toxicité des AVKs pour les prédateurs : effets létaux et sublétaux	26
I.5.3.a. Effets létaux des AVKs	26
I.5.3.b. Effets sublétaux des AVKs	29
I.6. Enjeux face à l'exposition généralisée des prédateurs de rongeurs aux rodenticides AVKs.....	31
I.6.1. Mieux comprendre ce qui régit les transferts	31
I.6.1.a. Documenter et spatialiser l'exposition des rongeurs cibles et non-cibles	31
I.6.1.b. Déterminer les facteurs environnementaux modulant l'exposition des prédateurs.....	34
I.6.2. Mesurer les effets des traitements rodenticides sur les populations de prédateurs	38
I.6.2.a. Développer des outils non invasifs de mesure des effets	38
I.6.2.b. Mesurer les effets des AVKs et l'efficacité des mesures de limitation du risque sur les populations	39
I.7. En résumé.....	41
I.8. Objectifs de la thèse	45

Sommaire

II. Distribution des contaminations aux AVKs dans les communautés de rongeurs47

II.1. Introduction	49
II.2. Matériel et méthodes	51
II.2.1. Secteurs, périodes d'étude et usage des rodenticides associés	51
II.2.2. Suivi de l'exposition des rongeurs : de la collecte à l'analyse des données	53
II.2.2.a. Échantillonnage des rongeurs	53
II.2.2.b. Préparation des tissus pour analyse et quantification des AVKs dans le corps des rongeurs.....	55
II.2.2.c. Analyses statistiques	59
II.3. Résultats	62
II.3.1. Traitements rodenticides PPPs : intensité et chronologie par rapport à la collecte des rongeurs	62
II.3.2. Succès de capture des différentes espèces de rongeurs.....	63
II.3.3. Espèces exposées, nombre de molécules et principales molécules retrouvées	65
II.3.4. Caractérisation de la distribution des AVKs dans la communauté de rongeurs	67
II.3.5. Caractérisation de la distribution des contaminations aux AVKs au sein de chaque taxon	71
II.4. Discussion.....	73
II.4.1. Fréquence et niveaux de contamination des espèces cibles et non-cibles des traitements AVKs.....	73
II.4.2. Influence de l'usage des AVKs (biocide ou PPP) et de leur saisonnalité sur la contamination des rongeurs	75
II.4.3. Variabilité spatiale des contaminations et mobilité des rongeurs	77
II.4.4. Conclusion.....	79
II.5. Bibliographie	79

III. Mesure d'exposition des renards aux AVKs à travers la recherche de résidus dans les fèces83

III.1. Introduction :	85
III.2. Matériel et méthodes	87
III.2.1. Secteurs, périodes d'étude et usage des rodenticides associés	87
III.2.1.a. Secteurs et période d'étude.....	87
III.2.1.b. Traitements rodenticides PPP : intensité et chronologie par rapport à la collecte des fèces de renard.....	89
III.2.2. Mesure de l'exposition des renards via les fèces	90
III.2.2.a. Échantillonnage des fèces et sélection pour les analyses	90
III.2.2.b. Dosages des anticoagulants :	92
III.2.2.c. Détermination des rongeurs consommés par étude des macrorestes dans les fèces.	93
III.2.2.d. Analyses statistiques	94
III.3. Résultats	96
III.3.1. Caractérisation des biais.....	96
III.3.2. Exposition et régime alimentaire en fonction de l'usage des rodenticides	98
III.3.3. Lien spatial et quantitatif entre la présence de bromadiolone dans les fèces, les traitements rodenticides PPP et le régime alimentaire	98

III.4. Discussion.....	101
III.4.1. Biais d'identification des fèces :	101
III.4.2. Influence de la fraîcheur des fèces sur leur contamination aux AVKs.....	102
III.4.3. Lien entre usage des rodenticides, régime alimentaire et exposition aux AVKs	103
III.4.4. Lien entre la contamination des fèces et la distribution spatiale des traitements PPP à la bromadiolone.....	104
III.4.5. Conclusion.....	106
III.5. Bibliographie	107
 IV. Quels sont les effets des AVKs sur les populations de Renard roux ?	113
 IV.A. Est-ce que les tests Hemocult II® sont utilisables dans les fèces de renard pour la détection d'hémorragies causées par les AVKs ?	115
IV.A.1. Introduction	117
IV.A.2. Matériel et méthodes.....	117
IV.A.3. Résultats	118
IV.A.4. Discussion et conclusion.....	119
IV.A.5. Bibliographie	120
 IV.B. Effets des AVKs sur la dynamique des populations de Renard roux	121
IV.B.1. Summary	123
IV.B.2. Introduction	124
IV.B.3. Materials and methods.....	126
IV.B.3.1. Study area and control of rodent outbreaks	126
IV.B.3.2. Data collection	126
IV.B.3.2.a. Assessment of bromadiolone treatments	126
IV.B.3.2.b. Red fox data.....	127
IV.B.3.3. Data analysis	128
IV.B.4. Results	129
IV.B.4.1. The intensity of bromadiolone treatments	129
IV.B.4.2. Impacts of the quantity of used bromadiolone on red fox population densities at the communal level	130
IV.B.5. Discussion	132
IV.B.6. Conclusion	135
IV.B.7. Bibliography	136

V. Discussion générale139

V.1. Usage des AVKs et conséquences en terme d'exposition et d'effets pour les populations de renard..... 141

V.1.1. Contexte PPP 141

V.1.2. Contexte biocide 143

V.2. Quelle surveillance mettre en place pour évaluer l'exposition des prédateurs aux AVKs et les effets qui en découlent sur leurs populations ? 145

IV.2.1. Position du problème 145

V.2.2. Que faut-il surveiller ?..... 147

V.2.2.a. Les besoins réglementaires en Europe 147

V.2.2.b. Les effets sublétaux des AVKs 148

V.2.3. Quel dispositif mettre en place : quel protocole, quel réseau ?..... 150

V.2.3.a. Contexte PPP..... 150

V.2.3.b. Contexte biocide..... 152

V.3. Perspectives 155

V.3.1. Caractériser la consommation des appâts rodenticides et les effets sur les populations de rongeurs cibles et non-cibles en contexte biocide 155

V.3.1.a. Affiner la caractérisation de la distribution spatiale et temporelle des contaminations aux AVKs dans la communauté de rongeurs 155

V.3.1.b. Suivre les effets des traitements sur les populations cibles et non-cibles 156

V.3.1.c. Préciser les implications de la résistance des rongeurs sur le transfert aux prédateurs 156

V.3.2. Définir l'importance des carcasses de rongeurs empoisonnés aux AVKs en tant que voie de transfert vers les prédateurs 157

V.3.3. Approfondir la compréhension des relations entre exposition des prédateurs aux AVKs, usage et régime alimentaire 158

V.3.3.a. Dater les expositions mesurées chez les prédateurs 158

V.3.3.b. Affiner les analyses de régime alimentaire 158

V.4. Conclusion 160

VI. Références bibliographiques163

Résumé étendu 185

Liste des figures

Figure 1. Principaux groupes de pesticides impliqués dans les cas d’empoisonnements de la faune sauvage rapportés dans les pays européens (Berny 2007).	5
Figure 2. Evolution de la production moyenne par unité de surface pour le blé, le riz et le maïs et ventes des différents types de pesticides (fongicides, herbicides, insecticides et autres) sur la période 1960 – 2004 (Oerke 2005).	8
Figure 3. a) Cycle de croissance des populations de la forme fouisseuse du Campagnol terrestre <i>Arvicola terrestris</i> scherman sur 5 ans (Couval <i>et al.</i> 2013a) et b) Parcelle en herbe infestée par le Campagnol terrestre, Les Combes (25), février 2012.	9
Figure 4. Structures semi-développées des trois familles d’AVKs rodenticides et de la vitamine K1..	11
Figure 5. Surfaces traitées (ha), quantités d’appâts (tonnes) et quantités d’appâts/ ha (kg/ha) utilisés par an dans le cadre de la lutte à la bromadiolone contre le Campagnol terrestre et influence des restrictions réglementaires et de la mise en place de contrats de lutte raisonnée (Giraudoux <i>et al.</i> 2012).	13
Figure 6. Schéma récapitulatif de la chronologie d’utilisation des différents outils de la lutte intégrée au cours d’un cycle de croissance des populations de la forme fouisseuse du Campagnol terrestre <i>Arvicola terrestris</i> scherman (Giraudoux <i>et al.</i> 2012).	17
Figure 7. Représentation théorique des cinétiques plasmatiques et hépatiques des rodenticides AVKs chez le chien (Huguet 1998).	22
Figure 8. Evolution de la mortalité de la faune sauvage dont la mort par intoxication aux anticoagulants est confirmée ou suspectée dans le Doubs ou en Auvergne depuis 1998 (données SAGIR-réseau ONCFS-FNC-FDC) (Couval <i>et al.</i> 2013a).	28
Figure 9. Distribution des fréquences (%) d’expositions aux composés anticoagulants chez les humains (n=770), les animaux domestiques (n=1269) et les animaux sauvages (n=185) et comparées aux parts de marché de ces composés en France (Berny <i>et al.</i> 2010).	37
Figure 10. Schéma récapitulatif des objectifs et de l’organisation du mémoire	46
Figure 11. Localisation en France et au sein de la Franche-Comté des départements et communes échantillonnées et usage des AVKs sur ces communes.	52
Figure 12. Plan d’échantillonnage des rongeurs sur une commune PPP : la commune d’Echevannes.	54
Figure 13. Pour chaque usage (biocide ou PPP), pourcentage de rongeurs exposés en fonction du nombre d’AVKs détectés et détail des a) molécules retrouvées, b) espèces concernées.	66
Figure 14. Distance au plus proche traitement (m) a) en fonction de l’occurrence d’AVKs (0 : absence et 1 : présence) dans les rongeurs capturés b) des individus exposés aux AVKs pour chacun des usages (biocide et PPP).	68
Figure 15. Tracé, pour chaque catégorie des 3 variables retenues dans le modèle explicatif du log des concentrations non nulles – saison (a) , usage (b) et taxon (c) -, des résidus du modèle explicatif incluant les 2 autres variables, c.-à-d. de la variation du log des concentrations non expliquée par les 2 autres variables..	70
Figure 16. Probabilité de présence d’AVKs dans les rongeurs en fonction des variables sélectionnées par AIC dans les modèles monospécifiques pour le Campagnol terrestre (a), les Mulots (b) et le Campagnol roussâtre (c).	72
Figure 17. Localisation des secteurs de collecte de fèces en Franche-Comté.	87

Liste des figures

Figure 18. Parcelles traitées à la bromadiolone au printemps 2011 dans et aux environs des communes de Fuans (zone traitée F1) ou de Gilley (zone traitée G1)	88
Figure 19. Parcelles traitées à l'automne 2011 A/ dans et aux environs de la commune de Fuans (zone traitée F2) et B/ dans et aux environs de la commune de Bians-les-Usiers (zone traitée B2)	88
Figure 20. Collecte des fèces ; type de chemins parcourus, fèces de « type renard » et ramassage.	90
Figure 21. Répartition spatiale des fèces sélectionnées pour analyse – exemple du secteur de Rougemont au printemps	91
Figure 22. Fréquence de fèces contenant de la bromadiolone en fonction de l'indice de fraîcheur estimé sur le terrain.....	97
Figure 23. Probabilité de présence de la bromadiolone dans une fèces de « type renard » en fonction de la surface traitée dans un rayon de 1000 m (surf1000) autour du point de collecte.....	100
Figure 24. Protocole d'utilisation des plaquettes Hemocult II® adapté de SKD France 2006 et illustré par les A/ face avant, B/ face arrière des plaquettes vierges de test, C/ prélèvements révélés négatifs (absence de peroxydase), D/ prélèvements révélés positifs.....	118
Figure 25. Résultats des tests Hemocult II.	119
Figure 26. The location of the Doubs Department, distribution of the communes and their mean altitudes (m) (a) and spatial distribution of the red fox count transects (b).	127
Figure 27. (a) kIKAI (kriged log-transformed red fox KAI values) versus the number of shot foxes, (b) predicted fixed effect (<i>i.e.</i> based on bromadiolone use years n-1 and n-2) versus spatially detrended observed kIKAI, (c) predicted kIKAI versus observed kIKAI.	131
Figure 28. Maps of the Doubs Department of (a) bromadiolone bait quantities per commune (in tonnes) from 2003 to 2008, (b) kIKAI (kriged log-transformed red fox KAI values) from 2004 to 2009.....	131
Figure 29. Présentation synthétique des principaux résultats du mémoire.....	142
Figure 30. Facteurs régulant le transfert des AVKs vers les populations de rongeurs et de prédateurs et les effets des AVKs sur les populations de prédateurs.....	146
Figure 31. Dispositif de suivi de l'exposition et des effets sur les populations de prédateurs des AVKs utilisés dans une lutte PPP et proposé sur la base des essais préliminaires d'applicabilité présentés dans le manuscrit	151
Figure 32. Dispositif de suivi de l'efficacité des mesures mises en place pour limiter le transfert et les impacts des AVKs vers et sur les populations de prédateurs	161

Liste des tableaux

Tableau 1. Dates d'inscription et d'expiration de l'inscription des anticoagulants rodenticides sur les listes communautaires des substances actives autorisées pour les usages biocides et PPP	16
Tableau 2. Demi-vies (DT50) des AVKs dans l'eau sous hydrolyse et photolyse et dans les sols.....	20
Tableau 3. Cinétique et métabolisme des AVKs. Récapitulatif des données.....	23
Tableau 4. DL50 (mg administré/kg masse corporelle) (administration unique par voie orale) indiquées dans les rapports d'évaluation des molécules par l'Union Européenne pour les groupes des oiseaux et des mammifères	27
Tableau 5. Résultats des tests de toxicité des AVKs (administration orale) sur la reproduction. LOAEL (lowest observed adverse effect level, plus petite dose ayant un effet néfaste observable en µg/kg de masse corporelle/ jour) et NOAEL (no observable adverse effect level plus forte dose sans effet néfaste observable en µg/kg de masse corporelle/ jour) chez les femelles gravides et chez le fœtus et l'embryon.....	30
Tableau 6. Nombre de "nuits piège" (1 nuit piège = 1 piège laissé une nuit sur site) par saison, par commune et par type de piégeage.....	53
Tableau 7. Limites de quantification (LOQ) et de detection (LOD) en µg/kg de matrice pour chaque type de matrice et pour chaque AVK recherché.	58
Tableau 8. Equation, R ² et nombre de points impliqués (N) dans les droites de corrélation reliant le log des (quantités totales +1) (y) d'AVK au log des (quantités hépatiques +1) (x) pour chacun des 3 AVKs ; bromadiolone, chlorophacinone et difénacoum.	59
Tableau 9. Surface traitée, quantité d'appâts délivrée et quantité d'appâts délivrée par hectare traité dans chaque commune et à chaque saison.....	62
Tableau 10. Effectifs de rongeurs capturés par saison, par usage, par commune et par espèce.	64
Tableau 11. Succès de capture pour les espèces les plus capturées (<i>Mulot sp</i> <i>Apodemus sp</i> et Campagnol roussâtre <i>Myodes glaeolus</i>) sur les lignes standardisées (nombre de captures pour 100 nuits/pièges) par saison par usage des AVKs..	64
Tableau 12. Pourcentages d'individus exposés aux AVKs par espèce par usage et par saison.....	68
Tableau 13. Part d'individus de chaque espèce (%) présentant des concentrations d'AVKs supérieures à 100 µg/kg, 1000 µg/kg et 10000 µg/kg.....	70
Tableau 14. Variables sélectionnées, AICc, R ² des modèles mono-spécifiques explicatifs de l'occurrence des AVKs et du log des concentrations non nulles pour chaque taxon (<i>Mulot sp</i> , Campagnol roussâtre, Campagnol terrestre, Campagnol des champs et Souris domestique) et N : nombre de rongeurs impliqués dans chaque modèle.	71
Tableau 15. Surface traitée, quantité d'appâts délivrée et quantité d'appâts délivrée par hectare traité pour chaque zone traitée comprise dans les secteurs PPP où ont eu lieu les collectes de fèces	89
Tableau 16. Résultats par secteur des analyses génétiques sur les fèces collectées au printemps (P) et à l'automne (A) 2010 et utilisées pour le dosage des AVKs ou les analyses de régime alimentaire.....	97
Tableau 17. Fréquence d'occurrence des restes de chaque taxon de rongeurs dans les fèces de chaque espèce de carnivores (résultats des tests génétiques) pour chaque usage des rodenticides..	99
Tableau 18. Comparaison des GAM explicatifs de la présence/absence de bromadiolone dans les fèces et incluant différentes combinaisons de variables de caractérisation des traitements	

Liste des tableaux

bromadiolone PPP et de variables caractérisant la consommation de Campagnol terrestre et de Campagnol des champs.....	100
Tableau 19. Comparaison des GLM explicatifs de la présence/absence de bromadiolone dans les fèces et incluant différentes combinaisons de variables de caractérisation des traitements bromadiolone PPP et de variables caractérisant la consommation de Campagnol terrestre et de Campagnol des champs.....	101
Tableau 20. Bait quantity, surface area treated and number of communes where bromadiolone treatment occurred in the entire Doubs Department from 2003 to 2008	130
Tableau 21. Récapitulatif des données permettant d'estimer, sous l'hypothèse d'un prélèvement au hasard des rongeurs, la fréquence d'ingestion de rongeurs exposés aux AVKs par les renards dans un contexte biocide et les doses d'AVKs correspondantes ingérées ($\mu\text{g/ kg}$ de masse corporelle).....	143
Tableau 22. Récapitulatif des mesures à mettre en place pour limiter le transfert des AVKs aux organismes non-cibles lors de l'utilisation des AVKs dans un cadre biocide (lutte contre les commensaux essentiellement), ainsi que des dispositifs et les freins associés à leur mise en place	149

Liste des communications relatives à la thèse

Publication

Jacquot, M., Coeurdassier, M., Couval, G., Renaude, R., Truchetet, D., Pleydell, D., Raoul, F., Giraudoux, P., *Long term monitoring of red fox populations to assess changes in rodent control practices*. Journal of Applied Ecology. In press.

Congrès internationaux

Jacquot, M., Coeurdassier, M., Sage, M., Fourel, I., Dinkel, A., Parmentier, A.-L., Dervaux, A., Rieffel, D., Prat-Mairet, Y., Raoul, F., Giraudoux, P., *Linking predator exposure and patterns of treatments with anticoagulant rodenticides by using faeces*. 9th European Vertebrate Pest Management Conference, 22-27 September 2013 (abstract accepted as oral communication), Turku, Finland.

Jacquot, M., Coeurdassier, M., Berny, P., Fourel, I., Dervaux, A., Raoul, F., Giraudoux, P., *How the uses of anticoagulant rodenticides influence the distribution of their residues in rodent community?* 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, 20-24 May 2012, Berlin, Germany.

Giraudoux, P., Coeurdassier, M., Raoul, F., Couval, G., Jacquot, M., Truchetet, D. (2012) *Integrated control of grassland small mammals: a multi-scale approach*. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, 20-24 May 2012, Berlin, Germany.

Jacquot, M., Coeurdassier, M., Couval, G., Renaude, R., Truchetet, D., Raoul, F., Giraudoux, P., (2011) *Response of red fox populations to rodent field controls with bromadiolone: a 6 year study on regional scale*. SETAC Europe 21st Annual Meeting, 15-19 May 2011, Milan, Italy.

Coeurdassier, M., Benoit, E., Berny, P., Cosson, J-F., Fourel, I., Giraudoux, P., Jacquot, M., Pascal, M., Raoul, F. (2010) *The RODENT program: impact of anticoagulant rodenticides on ecosystems – adaptations of target rodents and effect on their predators*. 20st SETAC Europe Annual Meeting, 23-27 May 2010, Séville, Spain.

Congrès nationaux

Jacquot M., Coeurdassier M., Berny P., Fourel I., Dervaux A., Raoul F., Giraudoux P., *Influence de l'usage des rodenticides anticoagulants sur leur distribution dans les communautés de rongeurs*. 18^{ème} Forum des Jeunes Chercheurs, 6-7 septembre 2012, Besançon, France.

Jacquot M., Coeurdassier M., Berny P., Fourel I., Dervaux A., Raoul F., Giraudoux P., *Influence de l'usage des rodenticides anticoagulants sur leur distribution dans les communautés de rongeurs*. Colloque de la Société française d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquée, 4-5 juillet 2012, Lyon, France.

Jacquot M., Coeurdassier M., Couval G., Renaude R., Truchetet D., Raoul F., Giraudoux P., *Impact de la bromadiolone sur les populations de renard roux*. Colloque de la Société française d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquée, 22 juin 2011, Paris, France.

Jacquot M., Coeurdassier M., Couval G., Renaude R., Truchetet D., Raoul F., Giraudoux P., *Impact d'un pesticide anticoagulant, la bromadiolone, sur les populations de renards - Analyse d'un suivi départemental sur 6 ans*. 16^{ème} Forum des Jeunes chercheurs, 7-8 juin 2010, Besançon, France.

Revue technique et émission de radio

Couval, G., Truchetet, D., Coeurdassier, M., Michelin, Y., Jacquot, M., Giraudoux, P., Berny, P., Decors, A., Morlans, S., Quintaine, T. & Renaude, R. (2013) *Pullulations de campagnol terrestre : quels enjeux ?*. Phytoma, 664, 33-36.

Couval, G., Truchetet, D., Coeurdassier, M., Michelin, Y., Jacquot, M., Giraudoux, P., Berny, P., Decors, A., Morlans, S., Quintaine, T. & Renaude, R. (2013) *Lutte raisonnée contre le campagnol terrestre*. Phytoma, 664, 33-36.

Emission de radio Eureka. Actualité des laboratoires sur France Bleu Besançon. *Des produits anti-rongeurs ... jusque dans les crottes des renards*. Chroniques des 21 et 22 janvier 2012 (3:10 et 3:27).

I. Introduction générale

I.1. Les pesticides dans le monde

Au niveau mondial, environ 9000 espèces d'insectes et d'acariens, 50 000 espèces de pathogènes des plantes, 8000 espèces d'adventices causent des dommages aux cultures (Zhang, Jiang & Ou 2011) et 85 à 170 espèces de rongeurs sont des pestes agricoles ou urbaines (Stenseth *et al.* 2003). Globalement, 4,6 millions de tonnes de pesticides¹ sont utilisés chaque année et 500 substances font l'objet d'une utilisation massive (Zhang, Jiang & Ou 2011). Les herbicides représentent la majeure partie des ventes mondiales de pesticides (en 2005, 48 % des ventes en millions de dollars US) ; ils sont suivis des insecticides (25 % des ventes en 2005), des fongicides – bactéricides (24 % des ventes en 2005) et des autres pesticides dont les rodenticides et les molluscicides (3 % des ventes en 2005) (Zhang, Jiang & Ou 2011). L'Europe, alors qu'elle ne représente que 8% des terres agricoles, est la plus grande consommatrice de pesticides dans le monde (Birch, Begg & Squire 2011). Elle est suivie par l'Asie (Zhang, Jiang & Ou 2011). En Europe, la France est le pays qui consomme le plus de pesticides, suivie de l'Allemagne (Zhang, Jiang & Ou 2011).

Environ 1 % des pesticides appliqués atteignent leurs cibles. Ainsi 99 % des pesticides utilisés contaminent le sol, l'eau, l'air et les organismes vivants (Zhang, Jiang & Ou 2011), ce qui conduit à une contamination généralisée des milieux. Par exemple, au moins 1 pesticide (la molécule mère ou un produit de dégradation) a été détecté dans plus de 90 % des analyses faites dans les cours d'eau pendant la période de 1992 à 2001 aux Etats-Unis (Gilliom *et al.* 2006) et dans 91 % des eaux de surface analysées en France de 2007 à 2009 (2889 stations de surveillance ; Dubois & Lacouture 2011). Certains pesticides peuvent persister pendant des années après leur application et se répandre sur de vastes étendues. La persistance du chlordécone dans les sols s'élèverait, selon les estimations, à plus de 500 ans dans certains types de sol aux Antilles (Cabidoche *et al.* 2009). Le DDT est également un polluant organique persistant dont les concentrations appliquées diminuent de moitié dans les sols au bout de 10 à 15 ans (Stockholm Convention 2008). De fortes teneurs en pesticides (par exemple en DDT) ont été détectées dans le corps des animaux marins en Antarctique ; cela suite à une dispersion de ces substances par voies atmosphérique, marine ou biologique (par les animaux migrateurs comme les baleines)(AMAP 2004) (Zhang, Jiang & Ou 2011). Cette vaste contamination environnementale est le résultat de décennies de mauvaises gestion et utilisation des pesticides, et actuellement, c'est dans les pays en développement que la situation est la plus dramatique (World Health Organization 2008). En effet, dans ces pays, les pesticides sont souvent mal utilisés et stockés car la législation fait défaut et les normes sanitaires ne sont pas appliquées (Harris & McCartor 2011).

¹ Un pesticide est une substance ou un mélange de substances destinées à prévenir, détruire, repousser, ou diminuer les densités des pestes (insectes, champignons, bactéries, virus, adventices, nématodes, rongeurs, etc.), cela inclut les insecticides, les herbicides, les fongicides, les rodenticides et diverses autres substances (USEPA 2012). La définition des pesticides peut être variable suivant les pays mais elle garde un principe commun : ce sont des substances toxiques qui permettent de lutter contre des organismes jugés nuisibles et qui sont en principe sans danger pour les organismes non-cibles et l'environnement (Zhang, Jiang & Ou 2011).

L'organisation mondiale de la santé estime que 350 000 personnes meurent chaque année suite à un empoisonnement non intentionnel aux pesticides. L'exposition aux pesticides à des niveaux sublétaux peut entraîner des effets sur la santé humaine : *e.g.* des risques accrus de développement de cancers ou d'avortements (Inserm 2013 ; World Health Organization 2013). L'institut Blacksmith inventorie les sites pollués (plus de 2000 à l'heure actuelle ; <http://www.blacksmithinstitute.org/>) et a hiérarchisé les problèmes de pollution pour la santé humaine en considérant le nombre de personnes concernées par chacune des pollutions dans les sites recensés. Parmi les 20 types de pollutions mentionnées, la pollution liée à l'usage agricole des pesticides est classée 3^e, et celle liée au stockage et à la production des pesticides est classée 10^e (Harris & McCartor 2011).

L'effet des pesticides sur les organismes sauvages non-cibles est avéré ; du niveau d'organisation cellulaire à celui des communautés (Walker *et al.* 2006 ; Berny 2007 ; Rattner 2009). Cependant, la menace globale que ces substances représentent pour la biodiversité ne peut, en l'état actuel des connaissances, être quantifiée (Programme des Nations Unies pour l'environnement 2007). La pollution fait partie des 5 menaces principales pour la biodiversité (avec la perturbation des habitats, les changements climatiques, les espèces invasives et la sur-exploitation ; Millenium Ecosystem Assesment 2005). L'établissement de la part des pesticides dans la perte de biodiversité est rendu complexe par la synergie entre les différentes menaces (Brook, Sodhi & Bradshaw 2008) : la conversion des habitats naturels en espaces agricoles peut entraîner une exposition accrue des organismes aux pesticides. Gibbs, Mackey & Currie (2009) ont cependant mis en évidence qu'au Canada l'utilisation des pesticides agricoles (ou une variable qui y est fortement corrélée comme l'intensification agricole en général) explique plus la perte d'espèces vertébrées menacées que la perte d'habitat en tant que telle. En Europe, Geiger *et al.* (2010) ont montré que parmi 13 variables caractérisant l'intensification agricole, l'utilisation des pesticides (en particulier les insecticides et les fongicides) expliquait le mieux la perte de diversité spécifique des plantes, des *Carabidae* et des oiseaux nichant au sol inféodés aux espaces agricoles.

Les rodenticides anticoagulants (AVKs) ont été récemment ré-homologués dans de nombreux pays industrialisés (notamment dans les pays européens) pour lutter contre les rongeurs. Si l'exposition de l'Homme à ces molécules est assez limitée (Berny 2011), des risques environnementaux sont associés à leur utilisation. Les AVKs posent notamment des problèmes d'empoisonnement de la faune non-cible ; ils font par exemple partie des pesticides les plus communément impliqués dans les intoxications létales de la faune sauvage (mammifères et oiseaux essentiellement) en Europe (Berny 2007 ; Figure 1). Des épisodes importants de mortalité de la faune non-cible peuvent être observés en nature lors de l'utilisation des AVKs en plein champs : des centaines d'empoisonnements ont été notés dans ces circonstances en Espagne (Olea *et al.* 2009), en Mongolie (Winters 2006), en France (Berny *et al.* 1997 ; Berny & Gaillet 2008), ou encore en Suisse (Saucy, Meylan & Poitry 2001 ; Kupper *et al.* 2006). Cependant, au vu des dégâts qu'ils causent, les rongeurs font partie des pestes les plus importantes au niveau mondial, et cela aussi bien dans les milieux agricoles qu'urbains (Stenseth *et al.* 2003 ; United States Environmental Protection

Agency 2008). Or, à l'heure actuelle les AVKs sont les seules molécules qui permettent une lutte efficace contre les rongeurs ; notamment contre les rongeurs commensaux. L'Europe recommande la mise en place de mesures de limitation du risque lors de l'utilisation de ces molécules mais l'optimisation ainsi que l'évaluation de ces mesures passent par une meilleure compréhension du transfert des AVKs et de leur impact sur la faune sauvage. Cette thèse vise ainsi à mieux caractériser *in situ* les mécanismes de transfert des AVKs rodenticides vers un prédateur de rongeurs, le Renard roux, ainsi que les effets qui en découlent pour les populations de ce prédateur.

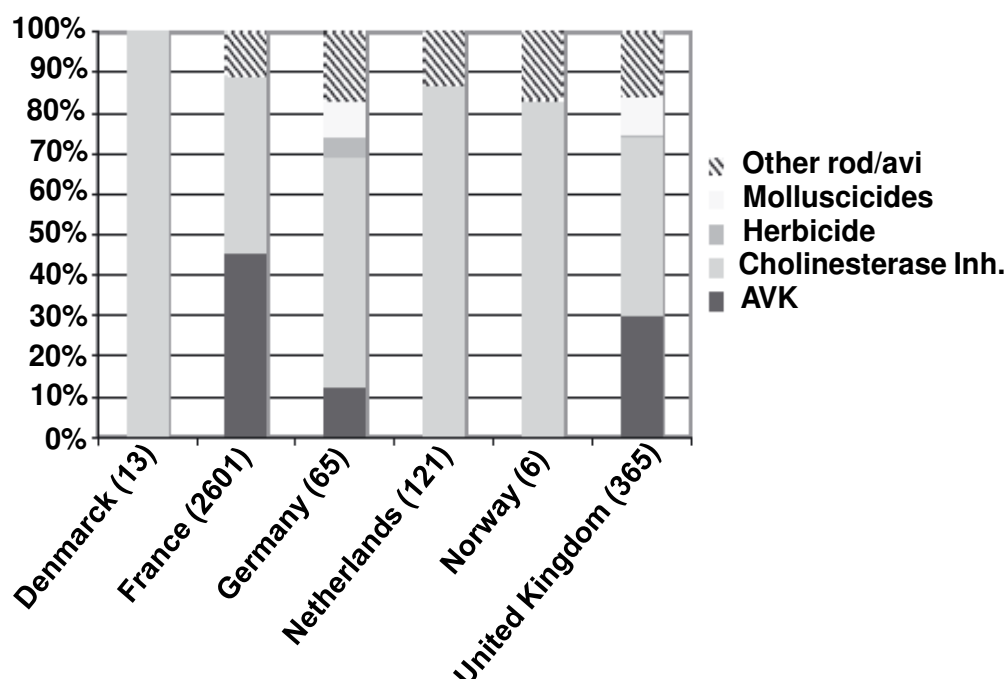


Figure 1. Principaux groupes de pesticides impliqués dans les cas d'empoisonnements de la faune sauvage rapportés dans les pays européens (les nombres entre parenthèses correspondent au nombre total de cas évalués) (Berny 2007).

I.2. Dommages causés par les rongeurs et enjeux de la lutte chimique

I.2.1. Dégâts matériels

Les rongeurs peuvent endommager du matériel stocké (livres, vêtements,...), circuler dans l'isolation des bâtiments, ronger les tuyaux de gaz, les câbles électriques et leur isolation et ainsi augmenter les risques d'incendie. Aux Etats-Unis les coûts de ces dégâts sont estimés à 8 millions de dollars par an (United States Environmental Protection Agency 2008) et dans ce pays la lutte contre les rongeurs est essentiellement chimique (U.S. Environmental Protection Agency 2006). Par ailleurs, certaines espèces de rongeurs fouisseuses, notamment le Castor du Canada *Castor canadensis*, le Rat musqué *Ondatra zibethicus*, et le Ragondin *Myocastor coypus* en Europe et aux Etats-Unis et le Rat taupe *Bandicota bengalensis* en Asie du Sud, endommagent les barrages, les canaux d'irrigation

et les structures de contrôle des inondations (Tobin & Fall 2004 ; Quéré & Le Louarn 2011). Ces dégâts sont difficilement chiffrables (*e.g.* les traces d'activité de rongeurs sont détruites avec la rupture d'une digue) mais ils constituent une menace potentielle pour les cultures, les habitations et donc les vies humaines protégées par les digues (Tobin & Fall 2004).

I.2.2. Transmission des maladies

Les rongeurs sont porteurs de plus de 60 zoonoses (maladies et infections qui se transmettent naturellement entre les animaux vertébrés et l'homme) (Singleton *et al.* 2010). Les rongeurs peuvent constituer un réservoir de zoonoses transmises par les arthropodes. La peste, par exemple, est un bacille (*Yersinia pestis*), véhiculé par des puces entre les rongeurs (notamment le Rat noir *Rattus rattus*) et les hommes, qui a causé la mort de dizaines de millions de personnes au cours de 3 pandémies (Quéré & Le Louarn 2011). Les zoonoses peuvent être également transmises de façon directe entre les rongeurs et les hommes : par contact (*e.g.* morsure) ou par l'environnement (eau, air, aliments souillés par les déjections contaminées des rongeurs). Ainsi, la leptospirose, dont les rongeurs sont un réservoir, peut sévèrement affecter les régions où l'économie est basée sur la riziculture. Par exemple dans le Nord-Est de la Thaïlande, des centaines de personnes en sont mortes de 1996 à 2003, avec un pic en l'an 2000 de 14 285 cas enregistrés dont 362 mortels. La plupart des cas (72 à 94 % de ceux rapportés annuellement) concernaient des agriculteurs, ce qui a eu des conséquences sur les communautés rurales et urbaines de la région (Meerburg, Singleton & Kijlstra 2009). Enfin, les rongeurs peuvent constituer des hôtes intermédiaires dans le développement de parasites dont la transmission est par conséquent favorisée lors des pullulations de rongeurs. De 1982 à 2005, 324 cas d'échinococcose alvéolaire étaient recensés en France dont 40 % en Franche-Comté ; région où les rongeurs prairiaux et notamment le Campagnol terrestre *Arvicola terrestris* pullulent (Quéré & Le Louarn 2011). Les rongeurs peuvent par ailleurs intervenir dans la transmission des maladies au bétail ; *e.g.* dans la transmission de la paratuberculose (causée par *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*), de la salmonellose (*Salmonella sp.*) ou de cryptosporidiose (*Cryptosporidium parvum*) en souillant la nourriture du bétail de leurs excréments (Daniels, Hutchings & Greig 2003).

Les rôles joués par les rongeurs dans la transmission des maladies sont multiples et le contrôle chimique de leurs populations permet de limiter la transmission des maladies dont ils sont porteurs. Le nombre de cas de typhus murins humains a par exemple été considérablement réduit par l'amélioration des conditions sanitaires, ainsi que par le contrôle chimique des populations de rongeurs et des puces vectrices de la bactérie responsable de cette maladie (*Rickettsia typhi*) (U.S. Environmental Protection Agency 2006).

I.2.3. Espèces invasives

Les espèces invasives sont considérées comme la 2^e menace pour la biodiversité après la perte et la fragmentation d'habitats (Millenium Ecosystem Assesment 2005). La base de données de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature comprenait, en 2005, 680 espèces animales éteintes ; les causes d'extinction étaient renseignées pour 25 % d'entre elles et incluaient les espèces invasives dans 54 % des cas (n=91). Dans 20% des cas les espèces invasives étaient la seule cause d'extinction citée (Clavero & Garcia-Berthou 2005). Les rats font partie des espèces de mammifères invasives les plus préoccupantes (Townes, Atkinson & Daugherty 2006). Ils ont colonisé environ 80 % des îles du monde où ils peuvent, après leur introduction et en raison de leur omnivorie, représenter une menace pour une grande variété de taxons (plantes, invertébrés, reptiles, mammifères et oiseaux ; Howald *et al.* 2007). Ils constituent ainsi une des cibles principales des campagnes d'éradication ; en Europe, 67 % des campagnes d'éradication d'espèces invasives visaient les rats (*Rattus sp*) (Genovesi 2005). Les programmes de gestion des espèces invasives qui ont réussi (campagnes d'éradications comprises) impliquent pour la plupart des moyens de contrôle chimiques (seuls ou associés à des méthodes mécaniques ou physiques). Les pesticides peuvent être, dans certains cas, le seul moyen de contrôle des espèces invasives disponible (Simberloff 2009). Howald *et al.* (2007) ont recensé à travers le monde 332 campagnes où les rongeurs ont été éradiqués avec succès de milieux insulaires et les rodenticides ont été utilisés pour 330 d'entre elles.

I.2.4. Pestes agricoles et forestières

Environ 40 % de la production alimentaire mondiale est perdue avant récolte à cause des pestes (insectes, maladies, adventices, animaux vertébrés). Après la récolte, les pestes (insectes, microorganismes, vertébrés) détruisent 20 % de denrées supplémentaires pendant le transport et le stockage (Pimentel 2007). Malgré une augmentation claire des quantités de pesticides utilisées (Figure 2), les pertes de récoltes agricoles n'ont pas diminué de façon significative pendant les 40 dernières années (Oerke 2005). Cependant les pesticides ont permis aux agriculteurs de modifier les systèmes agricoles pour en augmenter la productivité (Figure 2) ; les récoltes mondiales sont passées de 42 % du potentiel de production théorique mondiale en 1965 à 70 % en 1990 ; et cela sans endurer de plus grandes pertes. Les dommages des pestes sont en effet plus susceptibles de survenir dans ces systèmes qui sont plus productifs mais aussi plus sensibles aux nuisibles (Oerke 2005). Sans les pesticides, 70 % des récoltes seraient perdues à cause des pestes (Oerke 2005).

Au niveau mondial, il est estimé que les rongeurs causent la perte de 11 kg de nourriture par personne ce qui correspondrait au produit national brut combiné des 25 pays les plus pauvres (Pimentel 2007). Une réduction de 5 % des pertes dues aux rongeurs permettrait de nourrir 280 millions de personnes soit 34 % des personnes en sous-nutrition dans le monde (Meerburg, Singleton & Leirs 2009). Dans certains pays en développement, les rongeurs constituent la principale peste agricole (Meerburg, Singleton & Kijlstra 2009). En Indonésie par exemple les rongeurs, notamment le Rat des rizières *Rattus argentiventer*, causent la perte de 15 % des récoltes de riz (Stenseth *et al.*

2003). Au Nigéria, les rongeurs (*e.g. Dasymys incommis, Lophuromys sikapusi...*) ont entraîné jusqu'à 80 % de pertes dans la production d'huile de palme (Tobin & Fall 2004). Les pullulations de rongeurs peuvent ainsi conduire à des situations de déficit alimentaire dans certaines régions (*e.g.* en Inde, Birmanie, Bangladesh et Laos). Au Laos, une assistance alimentaire d'urgence a été nécessaire pour 85 000 à 145 000 personnes suite à des pullulations de rongeurs (espèces probablement impliquées : *Mus cervicolor, Rattus rattus, Berylmys berdmorei* et *Bandicota indica*) (Singleton *et al.* 2010).

En Europe, les pullulations de rongeurs, notamment celles de Campagnol des champs *Microtus arvalis* et de Campagnol terrestre *Arvicola terrestris*, peuvent entraîner d'importantes pertes agricoles et ainsi mettre en péril des exploitations agricoles (Singleton *et al.* 2010). En Allemagne en 2007, environ 8,5% des surfaces cultivées de blé ont été affectées par le Campagnol des champs et dans la zone affectée 11% des récoltes ont été perdues (Singleton *et al.* 2010). Le Campagnol terrestre sous sa forme fousseuse (*Arvicola terrestris* scherman) est une espèce de prairie qui pullule de façon cyclique (Figure 3a) et qui peut causer d'importants dégâts (Figure 3b). Les pertes annuelles de production dans les parcelles touchées sont de 30 à 80 % en Franche-Comté (Quéré & Le Louarn 2011). Les rodenticides représentent une faible part des pesticides agricoles utilisés (Figure 2). Cependant, en Europe, mais aussi aux Etats-Unis et dans certaines régions en voie de développement (Afrique Sub-saharienne, Laos), la destruction des rongeurs qui sont des pestes agricoles repose majoritairement sur la lutte chimique (U.S. Environmental Protection Agency 2006 ; Singleton *et al.* 2010 ; Quéré & Le Louarn 2011) ; *e.g.* aux Etats-Unis, les rodenticides représentent 75 à 90 % du marché des méthodes de lutte utilisées en agriculture.

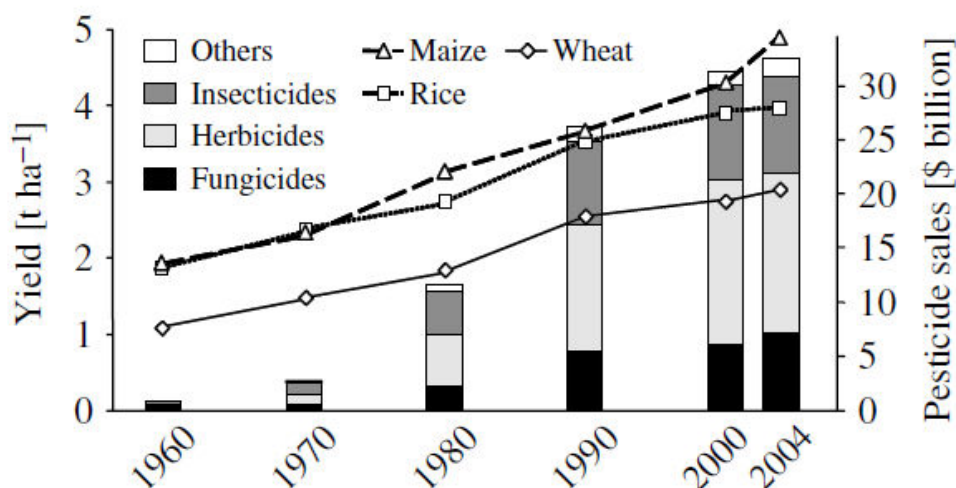


Figure 2. Evolution de la production moyenne par unité de surface pour le blé, le riz et le maïs et ventes des différents types de pesticides (fongicides, herbicides, insecticides et autres) sur la période 1960 – 2004 (Oerke 2005).

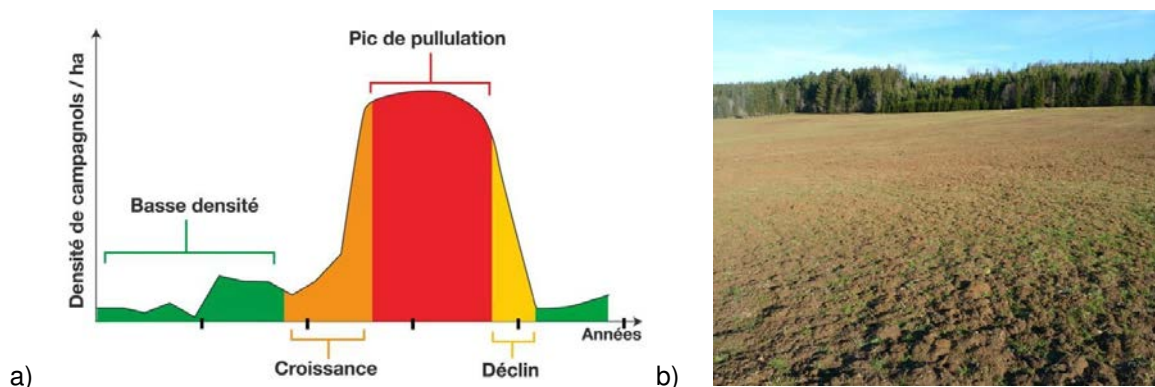


Figure 3. a) Cycle de croissance des populations de la forme fouisseuse du Campagnol terrestre *Arvicola terrestris scherman* sur 5 ans (Couval *et al.* 2013a) et b) Parcelle en herbe infestée par le Campagnol terrestre, Les Combes (25), février 2012. Photo A. Dervaux.

Les dommages forestiers causés par les rongeurs peuvent être substantiels ; notamment dans les plantations (Caroulle & Baubet 2006). Par exemple en Allemagne les dommages annuels causés par le Campagnol terrestre aux parcelles de reforestation sont estimés à 1,4 millions d'euros et ceux causés par cette espèce aux arbres fruitiers s'élèveraient à plusieurs millions d'euros (Singleton *et al.* 2010). Les rongeurs forestiers peuvent être également éradiqués avec des rodenticides ; le phosphore de zinc est homologué en Europe pour cet usage (European Commission Health & Consumers Directorate General 2010).

I.3. La Lutte chimique : molécules et espèces cibles

La lutte contre les rongeurs est essentiellement chimique et 2 types de molécules sont utilisées : principalement les AVKs et secondairement des poisons foudroyants (phosphore de zinc, alphachloralose, cholecalciferol, brométhaline, gaz toxiques).

I.3.1. Poisons foudroyants (phosphore de zinc, alphachloralose, cholecalciferol, brométhaline, gaz toxiques)

Les poisons foudroyants sont peu utilisés dans la lutte pour les rongeurs (Mason & Littin 2003). Le phosphore de zinc est le rodenticide le plus utilisé après les AVKs ; en particulier dans les pays en développement (Mason & Littin 2003). En Europe, cette molécule constitue, avec les gaz toxiques (phosphures et dioxyde de carbone), l'alphachloralose et la poudre d'épi de maïs les seules molécules non AVK autorisées. Chacun de ces composés a un mode d'action qui lui est propre mais tous causent la mort de l'animal dans les jours voire les minutes qui suivent leur application. Ces molécules sont peu utilisées pour une ou plusieurs des raisons suivantes : elles ne possèdent pas d'antidotes, ne sont pas utilisables à l'extérieur, sont trop onéreuses ou sont mal consommées par les rongeurs (en particulier par les rongeurs néophobes comme les rats qui peuvent stopper de consommer les appâts en associant leur ingestion à la mort de leurs congénères).

I.3.2. Les AVKs

Les AVKs rodenticides sont les molécules les plus utilisées pour contrôler les populations de rongeurs (Laakso, Suomalainen & Koivisto 2010). Les rodenticides AVKs se classent en 3 familles chimiques : les dérivés coumariniques (structure chimique 4-hydroxy-coumarinique ; bromadiolone, brodifacoum, coumafène, coumatétralyl, difénacoum), les dérivés de l'indanedione (structure indane-1,3-dione ; chlorophacinone) et les dérivés thiocoumariniques (structure 4-hydroxy-benzothiopyranone ; diféthialone) (Grandemange 2009). Tous ces composés possèdent une analogie structurale avec la vitamine K (Figure 4), ce qui leur confère un mécanisme d'action commun : ils se lient au complexe enzymatique assurant le recyclage de la vitamine K, la vitamine K époxyde réductase (VKOR). Le recyclage de la vitamine K (passage de sa forme époxyde à sa forme réduite), est ainsi inhibé. L'absence de vitamine K sous forme réduite empêche l'activation de certains facteurs de coagulation (les facteurs II, VII, IX et X), ce qui conduit à des troubles de la coagulation (Berny 2011). Les troubles de la coagulation apparaissent plusieurs jours après l'ingestion, le temps pour l'organisme d'épuiser son stock de vitamine K réduite. Cet effet retardé a un double avantage. D'abord l'efficacité des AVKs contre les animaux néophobes comme les rats est plus grande que celle des poisons foudroyants. Par ailleurs, cet effet retardé des AVKs permet d'administrer l'antidote (la vitamine K) aux animaux non-cibles lorsqu'ils présentent les premiers symptômes d'intoxication (Mason & Littin 2003).

L'affinité des composés pour leur site de liaison, VKOR, conditionne leur toxicité. L'apparition chez les rongeurs commensaux de résistances vis-à-vis des premières molécules AVKs utilisées (AVKs dits de première génération, *First Generation Anticoagulant Rodenticides* FGARs) a entraîné, dans les années 70-80, le développement des AVKs de 2nde génération (*Second Generation Anticoagulant Rodenticides*, SGARs) plus persistants et toxiques et donc plus efficaces (Erickson & Urban 2004 ; Eason *et al.* 2012). Ainsi, les SGARs sont qualifiés de « *single-dose rodenticides* » c'est-à-dire qu'une seule ingestion serait suffisante pour tuer l'animal. A l'inverse, les rongeurs doivent consommer plusieurs fois des appâts à base de FGARs pour atteindre une dose létale (Vyas & Rattner 2012). En laboratoire les DL50 (dose causant la mort de 50 % des animaux) sont donc, chez le rat et la souris, les plus élevées pour les FGARs (Berny 2011). Huit molécules sont autorisées en Europe ; 3 FGARS qui sont le coumafène, le coumatétralyl et la chlorophacinone et 5 SGARs qui sont le brodifacoum, la bromadiolone, le difénacoum, la diféthialone et le flocoumafène. Parmi les SGARs, d'après les données récapitulées dans Berny (2011), le flocoumafène et le brodifacoum seraient les composés les plus toxiques.

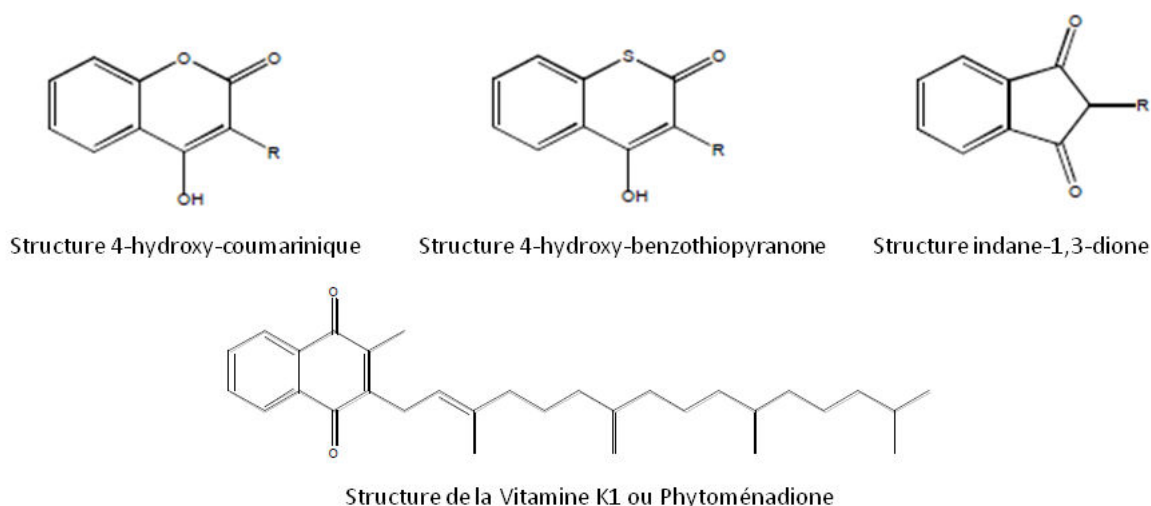


Figure 4. Structures semi-développées des trois familles d'AVKs rodenticides et de la vitamine K1.

I.3.3. Espèces de rongeurs cibles et usage des rodenticides anticoagulants

Les rongeurs (peu importe la taille de leurs populations, leurs traits d'histoire de vie ou leur habitat) peuvent proliférer quand ils ont à leur disposition eau, nourriture et abris pour se reproduire et pour survivre (Singleton *et al.* 2010). Les données permettant de caractériser la lutte chimique contre les rongeurs sont très partielles dans la littérature. A notre connaissance, seuls les Etats-Unis (U.S. Environmental Protection Agency 2006) et le Royaume-Uni (Dawson & Garthwaite 2001) ont publié des statistiques nationales d'utilisation des rodenticides. Le comportement des rongeurs cibles (l'occupation des milieux notamment) va conditionner la façon dont les AVKs sont utilisés.

La lutte rodenticide vise essentiellement les espèces de rongeurs commensales de l'Homme : le Rat surmulot *Rattus norvegicus*, le Rat noir *Rattus rattus* et la Souris domestique *Mus musculus domesticus*. Dans les constructions humaines, la stabilité de l'environnement (*e.g.* température) et l'abondance de ressources peut permettre aux rongeurs de se reproduire toute l'année (Singleton *et al.* 2010) ; *e.g.* dans les égouts (Gras, Patergnani & Farina 2012) ou les bâtiments d'élevage (Gómez Villafañe & Busch 2007). Ainsi aux Etats-Unis, la plupart des rodenticides sont utilisés à l'intérieur ou à proximité des bâtiments pour détruire ces espèces (Erickson & Urban 2004) ; 98 à 99 % des produits utilisés par les professionnels en dératisation visent les commensaux (U.S. Environmental Protection Agency 2006). En France ou en Europe de l'Ouest en général, les produits contre rats et souris représentent 90 % des ventes des produits biocides (Liphatech¹, comm. pers.).

La commensalité de ces espèces n'est pas stricte. A Madagascar par exemple, le Rat noir se déplace entre les habitations, les haies de sisal et les champs de riz selon la disponibilité alimentaire

¹ société productrice de rodenticides

dans chacun de ces milieux (Rahelinirina *et al.* 2010). Dans certains endroits au Royaume-Uni, les infestations de rats, et donc les traitements rodenticides, peuvent s'étendre le long des limites de champs (haies, fossés) qui sont adjacentes aux bâtiments de la ferme ou voire même à plusieurs centaines de mètres des bâtiments (European Community 2003) et en hiver, les rats se rapprochent des bâtiments (Harris *et al.* 1995). D'autres espèces peuvent devenir commensales en fonction des disponibilités alimentaires : *e.g.* *Mastomys natalensis* en Afrique subsaharienne (Monadjem *et al.* 2011) ou en Europe à la mauvaise saison le Mulot sylvestre *Apodemus sylvaticus* et le Mulot à collier *Apodemus flavicollis* (Harris *et al.* 1995 ; Quéré & Le Louarn 2011). Ainsi, le mouvement des rongeurs vers les bâtiments à la fin de la saison « naturelle » de reproduction, donc quand les densités sont souvent les plus élevées, entraîne un accroissement des traitements rodenticides dans les fermes au Royaume-Uni (Dawson & Garthwaite 2001). En France, il y a également un pic d'utilisation des rodenticides en automne et en hiver (octobre/novembre jusqu'à mars). Un pic d'utilisation est également noté en France au moment des moissons ; notamment dans les grandes plaines céréalières (Liphatech, comm. pers.).

Le Rat noir et le Rat surmulot, ainsi que la Souris domestique peuvent établir des populations sauvages, en particulier dans les îles où ils ont été introduits où, souvent, ils n'ont ni compétiteurs, ni prédateurs (Singleton *et al.* 2010). Le brodifacoum, un des AVKs les plus puissants, est utilisé pour éradiquer les rongeurs invasifs sur certaines îles de Nouvelle-Zélande ou sur certaines îles pacifiques américaines (Erickson & Urban 2004). Dans les territoires d'outre-mer français, les fortes densités de rats sauvages entraînent, en raison des problèmes sanitaires que posent les rats, une vaste application en nature de rodenticides (Denis Truchetet¹, comm. pers.).

Rats et souris, avec d'autres espèces de rongeurs strictement non commensales, peuvent localement poser d'importants dégâts aux récoltes agricoles et forestières, et cela aussi bien sur les îles que sur les zones continentales (voir le § I.2.4). Ces espèces peuvent atteindre de fortes densités de façon exceptionnelle en cas de conditions environnementales ponctuellement favorables. En Asie (Singleton *et al.* 2010) et en Amérique du Sud (Jaksic & Lima 2003), la floraison et donc la fructification synchrone d'espèces de bambous semelpares sont synonymes d'un apport massif de ressources alimentaires pour les rongeurs, ce qui se traduit donc par de fortes pullulations ; notamment du Rat noir *Rattus rattus* en Asie. Par ailleurs, il est supposé que des précipitations abondantes, en boostant la production primaire, seraient un des facteurs causant l'accroissement des densités de rongeurs ; *e.g.* pour la Souris domestique en Australie ou pour des espèces du genre *Mastomys* en Afrique sub-saharienne (Singleton *et al.* 2010). Le changement des pratiques agricoles (intensification des pratiques, homogénéisation des milieux) peut installer des conditions environnementales durablement favorables pour les rongeurs. Dans ces conditions, les rongeurs peuvent pulluler de façon cyclique : comme par exemple et comme évoqué plus haut, le Campagnol terrestre dans les zones à vocation d'une production essentiellement herbagère (Figure 3a). Les pullulations de rongeurs peuvent avoir une ampleur spatiale régionale (*e.g.* en Eurasie 3,000 - 10,000 km²) (Korpimäki *et al.* 2004 ; Winters *et al.* 2010). L'emploi d'une lutte chimique curative peut ainsi

¹ Expert référent national "Vertébrés nuisibles", Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la Forêt, DGAL - SDQPV

aboutir à l'épandage d'appâts AVKs sur des centaines de milliers d'hectares ; par exemple en Mongolie 350 000 hectares ont été traités (parfois par voie aérienne) à la bromadiolone en 2002 pour lutter contre le Campagnol de Brandt *Microtus Brandtii*. L'établissement de pullulations cycliques, mais pas forcément synchrones sur une région, peut se traduire par l'utilisation continue d'AVK sur plusieurs centaines d'hectares ; e.g. en Franche-Comté où plusieurs centaines voire milliers d'hectare sont traités chaque année depuis 1998 pour lutter contre le Campagnol terrestre (Figure 5). Par contre en France, les AVKs ne sont pas, à la connaissance des services de l'état, utilisés pour contrôler les rongeurs qui causent des dégâts forestiers (Olivier Baubet¹, comm. pers.).

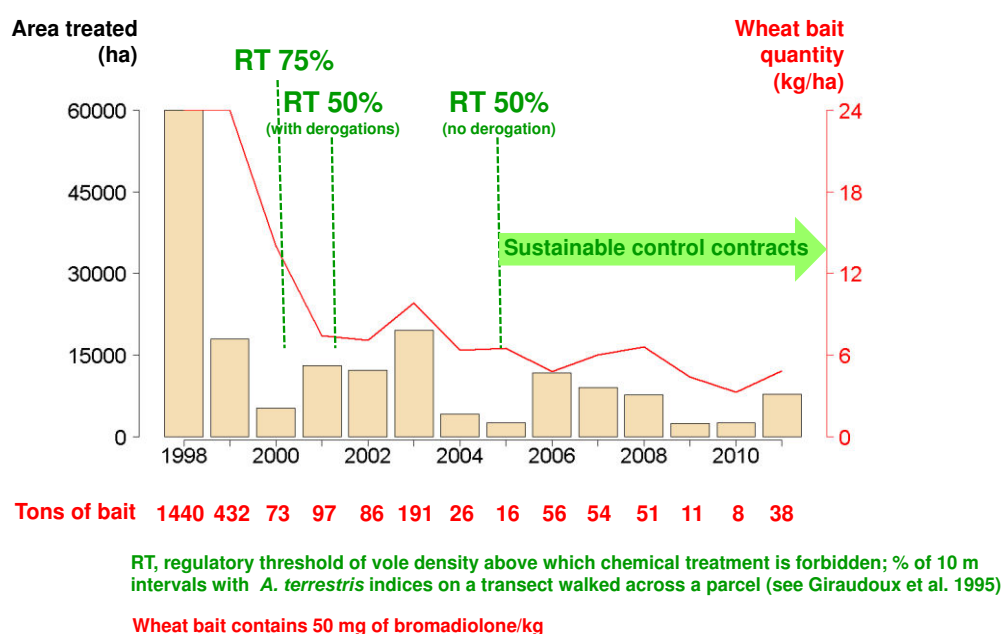


Figure 5. Surfaces traitées (ha), quantités d'appâts (tonnes) et quantités d'appâts/ ha (kg/ha) utilisés par an dans le cadre de la lutte à la bromadiolone contre le Campagnol terrestre et influence des restrictions réglementaires et de la mise en place de contrats de lutte raisonnée (Giraudoux *et al.* 2012).

I.4. Réglementation de la lutte chimique

Face aux impacts des pesticides sur l'environnement, les instances internationales (OCDE ou Organisation de coopération et de développement économiques, *Food and Agriculture Organization* FAO et Union Européenne notamment) promeuvent la mise en place d'une stratégie de réduction des risques associés à l'utilisation des pesticides (OECD Environment Directorate 2009). Cette stratégie comprend 4 points majeurs : l'établissement de procédures strictes d'autorisation des substances et de mise sur le marché des produits, l'encadrement de l'utilisation des produits par la mise en place de mesures incitatives ou réglementaires, la promotion de méthodes alternatives aux pesticides et du

¹ Chef du pôle interrégional Massif Central Bourgogne de la santé des forêts, Direction Régionale de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt d'Auvergne, Service Régional de l'Alimentation.

concept de lutte intégrée et enfin le contrôle et le suivi de la réduction du risque par l'utilisation d'indicateurs du risque (OECD Environment Directorate 2009). Nous présentons donc par la suite l'encadrement législatif de la lutte chimique à base de rodenticides AVKs en Europe.

I.4.1. Définition des usages : biocide et phytopharmaceutique.

En Europe, la législation définit 2 catégories de pesticides :

- Les « **produits phytopharmaceutiques** » (abrégés par la suite PPP) sont des formulations chimiques contenant une substance active et d'autres ingrédients. Leurs substances actives permettent de protéger les plantes contre les nuisibles. Le terme de plantes inclut toutes les parties vivantes de la plante (y compris les fruits et les graines) qu'elles soient sur pied ou récoltées et sous une forme peu modifiée (pressage, séchage,...). Ces substances peuvent être utilisées pour le jardinage ou dans les secteurs de l'agriculture, de l'horticulture et de la foresterie (European Union 2009). L'utilisation et la mise sur le marché de ces produits sont encadrées par le **règlement n° 1107/2009** qui remplace depuis le 14 juin 2011 la directive 91/414/CE.
- Les « **produits biocides** » contiennent ou génèrent des substances actives destinées à lutter contre les organismes qui sont nuisibles à la santé humaine ou animale ou qui détruisent des biens (qui ne sont pas des plantes). Ces produits incluent des produits tels que les désinfectants, les rodenticides ou les insecticides (European Union 2009). L'utilisation et la mise sur le marché de ces produits sont encadrées par la directive 98/8/CE qui sera remplacée par le **règlement N°528/2012** à compter du 1^{er} septembre 2013.

Trois FGARS – le coumafène, la chlorophacinone et le coumatétralyl – et 4 SGARS – la bromadiolone, le brodifacoum, le difénacoum et la diféthialone - sont autorisés pour un usage biocide. Seuls le coumafène, la bromadiolone et le difénacoum sont homologués pour un usage PPP.

Il n'est pas toujours aisé de classer les rodenticides dans l'une ou l'autre de ces catégories (European Commission 2011). C'est le cas par exemple des rodenticides utilisés pour protéger les céréales stockées. Les rongeurs consomment à la fois les céréales (cadre d'une lutte PPP) et souillent de leurs excréments les céréales, ce qui engendre un risque sanitaire pour l'Homme (cadre d'une lutte biocide). En fait, les quantités de denrées souillées sont bien supérieures à celles consommées et la législation définit cette lutte comme biocide. Les seuls cas d'utilisation des rodenticides en tant que PPP concernent la protection des plantes sur pied (dans les champs, serres, forêts,...) ou des stocks temporaires des récoltes dans les zones de culture. Cependant, l'utilisation de rodenticides dans les zones de culture dans le but d'éviter l'expansion des rongeurs aux habitations humaines (dans un but sanitaire donc) entrera dans un cadre biocide. Ce type d'usage est appelé usage « frontière » car selon le but de la lutte il ne sera pas régi par la même réglementation.

I.4.2. Evaluation des substances actives et autorisation de mise sur le marché (AMM)

Que ce soit pour les PPP ou les biocides, l'autorisation d'une substance active passe par son évaluation au niveau européen par un état membre rapporteur (*active substance assessment*) et son inscription sur une liste communautaire. Pour les biocides, cette liste figure actuellement à l'annexe I de la directive 98/8/CE ; elle sera remplacée par la « liste de l'Union des substances actives autorisées ». Pour les PPP, cette liste figure en annexe du règlement (CE) n°540/2011. L'autorisation de mise sur le marché (AMM) des produits incluant les substances actives autorisées se fait généralement à un niveau national pour les produits biocides. Le règlement sur les PPP divise l'Union Européenne en 3 zones pour lesquelles les conditions agricoles, phytosanitaires et environnementales sont comparables (sud, centre et nord) et la validation d'une AMM dans un des états d'une zone donnée entraîne, sauf demande spécifique d'un Etat, son extension automatique à tous les autres pays de la zone.

Ces autorisations n'interviennent qu'après considération de l'efficacité des produits, ainsi que des risques et des bénéfices pour l'homme et l'environnement qui sont associés à leur utilisation. Si le dossier d'une substance biocide n'est pas entièrement satisfaisant, la substitution de la substance est envisagée et son inscription n'excède pas une durée de 7 ans (les substances dont le dossier est satisfaisant sont inscrites pour une durée de 10 ans). En raison des problèmes environnementaux que causent les AVKs, ces substances ont été inscrites pour des durées de 5 ans sur la liste des molécules autorisées en usage biocide (Tableau 1) et ces substances seront soumises à une évaluation comparative lors de leur ré-évaluation. Les AVKs autorisés pour un usage PPP ont été inscrits pour des durées de 10 ans (Tableau 1) mais ces inscriptions peuvent être ré-examinées avant leur arrivée à échéance à la lumière de toute nouvelle information disponible, en particulier lors de la ré-évaluation des AVKs biocides (Directive 2006/5/CE de la commission européenne). En France il n'existe pas, à notre connaissance, de liste consultable des produits autorisés en usage biocide. La plupart des produits sont homologués pour lutter contre les rats et les souris (90 % des produits biocides, Liphatech comm. pers.) et en raison de l'acquisition de résistance des rongeurs commensaux aux FGARs la plupart des AMM demandées par les industriels concernent des SGARs (Liphatech comm. pers.). En France, la liste des produits homologués pour une lutte PPP est consultable en ligne (Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt 2013) ; les produits PPP sont tous à base de bromadiolone et leur emploi est autorisé uniquement contre 2 espèces cibles ; le Campagnol terrestre et le Ragondin (base consultée le 24/07/2013).

Puisque ces molécules sont ré-autorisées malgré les risques environnementaux associés à leur utilisation, la commission recommande la mise en place de mesures de limitation du risque lors de leur utilisation (*e.g.* l'application des appâts de manière à en minimiser l'accès aux organismes non-cibles ou la collecte des cadavres de rongeurs morts) et la mise en place d'une stratégie de lutte

intégrée où la lutte chimique n'est qu'un outil parmi d'autres de lutte contre les organismes nuisibles (European Commission 2010).

Tableau 1. Dates d'inscription et d'expiration de l'inscription des anticoagulants rodenticides sur les listes communautaires des substances actives autorisées pour les usages biocides et PPP

Substance active	Usage	Date d'inscription	Date d'expiration de l'inscription
Bromadiolone	Biocide	01/07/2011	30/06/2016
Brodifacoum		01/02/2012	31/01/2017
Chlorophacinone		01/07/2011	30/06/2016
Coumafène		01/02/2012	31/01/2017
Coumatétralyl		01/07/2011	30/06/2016
Difénacoum		01/04/2010	31/03/2015
Diféthialone		01/11/2009	31/10/2014
Flocoumafène		01/10/2011	30/09/2016
Bromadiolone	PPP	01/06/2011	31/05/2021
Coumafène		01/10/2006	31/07/2016
Difénacoum		01/01/2010	31/12/2019

I.4.3. Lutte intégrée contre les rongeurs

Les instances décisionnelles nationales et internationales ont placé la lutte intégrée contre les ennemis des cultures (IPM, *Integrated Pest Management*) au centre de la stratégie de réduction de l'utilisation des pesticides (Stoytcheva 2011 ; Hillocks & Cooper 2012). En Europe, cela a été traduit réglementairement dans la *Directive 2009/128/CE du Parlement européen et du Conseil du 21 octobre 2009 instaurant un cadre d'action communautaire pour parvenir à une utilisation des pesticides compatible avec le développement durable*. Cette directive définit l'IPM comme : « la prise en considération attentive de toutes les méthodes de protection des plantes disponibles et, par conséquent, l'intégration des mesures appropriées qui découragent le développement des populations d'organismes nuisibles et maintiennent le recours aux PPP et à d'autres types d'interventions à des niveaux justifiés des points de vue économique et environnemental, et réduisent ou limitent au maximum les risques pour la santé humaine et l'environnement. L'IPM privilégie la croissance de cultures saines en veillant à perturber le moins possible les agro-écosystèmes et encourage les mécanismes naturels de lutte contre les ennemis des cultures. ». L'IPM repose donc sur une « boîte à outils » qui inclut un ensemble de méthodes de lutte développées en se basant sur la compréhension du fonctionnement écologique des systèmes agricoles considérés, et notamment celui des réseaux trophiques (Birch, Begg & Squire 2011). Les interactions additives ou synergétiques des différents outils de l'IPM augmenteraient la durabilité de chaque outil pris individuellement, ce qui rendrait ainsi l'ensemble de la boîte à outil plus durable, tant sur le plan économique qu'environnemental (Birch, Begg & Squire 2011).

Dans certains systèmes agricoles (e.g. systèmes de culture intensifs du riz en Asie ou zones d'élevage laitier en France), une lutte intégrée contre les rongeurs nuisibles a été par exemple mise en place (Singleton *et al.* 2010 ; Giraudoux *et al.* 2012). Elle repose notamment sur la favorisation de la prédation (prédateurs sauvages ou domestiques), sur l'emploi de méthodes alternatives aux rodenticides (e.g. le piégeage), ainsi que sur le caractère collectif et préventif de la lutte (le contrôle des populations est fait quand elles sont en faible densité et de façon synchronisée pour éviter les ré-invasions des parcelles voisines) (voir la Figure 6 qui récapitule les outils de la lutte intégrée disponibles pour lutter contre la forme fouisseuse du Campagnol terrestre dans les zones d'élevage laitier en France). La lutte intégrée permet de réduire les quantités de rodenticides utilisées, ce qui augmente la durabilité de la lutte. En diminuant le contact des rongeurs avec les molécules, on diminue l'apparition de résistances. Par ailleurs, en diminuant les quantités de rodenticides utilisées, on minimise potentiellement les effets sur la faune non-cible. Les principes de la lutte intégrée sont également appliqués dans le cadre de traitements biocides pour le contrôle des rongeurs commensaux (U.S. Environmental Protection Agency 2006).

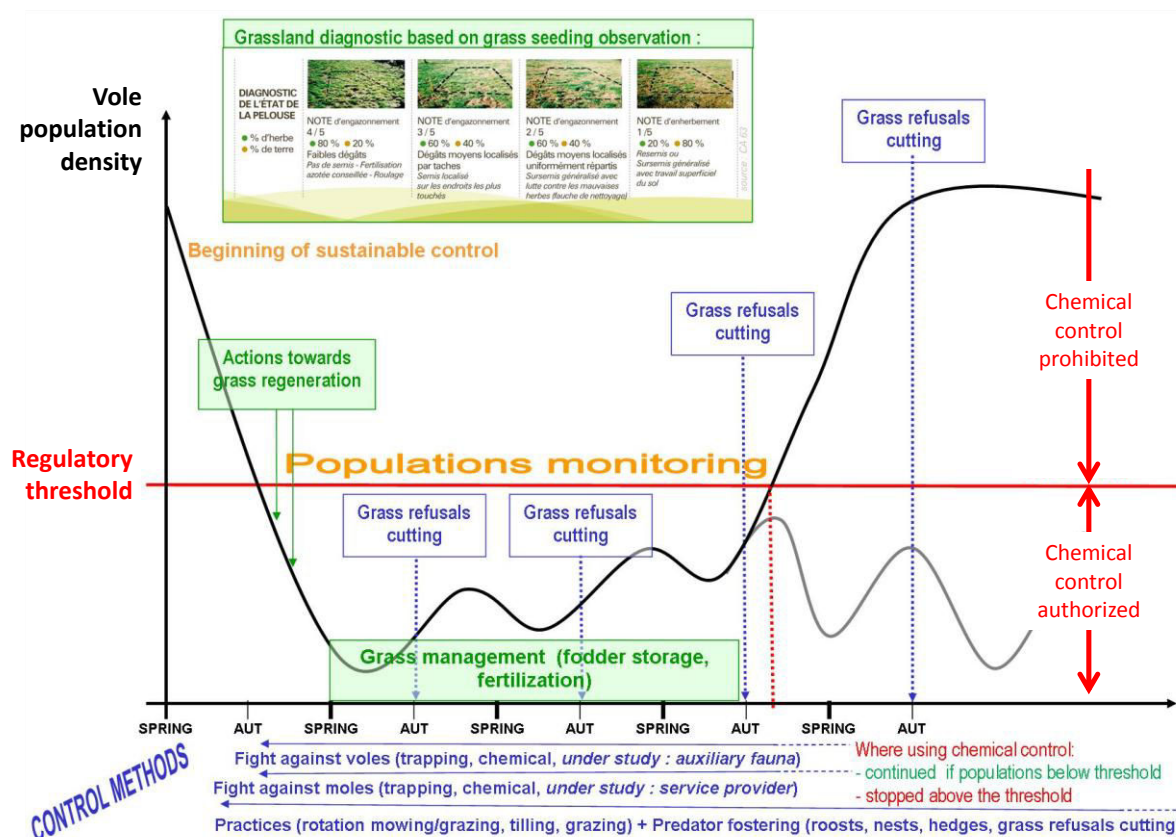


Figure 6. Schéma récapitulatif de la chronologie d'utilisation des différents outils de la lutte intégrée au cours d'un cycle de croissance des populations de la forme fouisseuse du Campagnol terrestre *Arvicola terrestris scherman* (Giraudoux *et al.* 2012).

I.4.4. Suivi des effets environnementaux des rodenticides AVKs après leur mise sur le marché

I.4.4.a. Surveillance de la vente et de l'utilisation des rodenticides AVKs

L'Union Européenne (UE) impose depuis 2009 à ses états membres la collecte des données sur les ventes et l'utilisation des pesticides PPP sous une forme harmonisée et comparable entre les états, ceci pour calculer des indicateurs des risques pour la santé humaine et pour l'environnement (Règlement CE n°1185/2009). Les données sur l'utilisation des pesticides PPP sont collectées tous les 5 ans (au cours d'une enquête sur les pratiques culturales auprès d'un échantillon représentatif d'agriculteurs) et validées par croisement avec les données annuelles des ventes (EUROSTAT 2010). Le suivi des ventes et de l'utilisation des biocides ne fait l'objet d'aucune réglementation européenne.

En France, certaines substances font l'objet d'un suivi rapproché en raison de leurs impacts sur la santé humaine ou sur l'environnement. La bromadiolone (utilisée dans la lutte PPP contre le Campagnol terrestre) fait par exemple l'objet d'une telle traçabilité, et cela en raison des risques d'empoisonnements de la faune non-cible qui sont associés à cette molécule. Les quantités des produits PPP à base de bromadiolone qui sont délivrées aux agriculteurs sont contrôlées et les agriculteurs doivent ensuite déclarer toutes les utilisations (date du traitement, quantités utilisées,...) qu'ils font de ces produits. Cette obligation s'applique pour l'instant en Franche-Comté (Préfet du Doubs 2007) mais va être étendue au niveau national (Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt 2012).

I.4.4.b. Surveillance des effets des rodenticides AVKs sur les populations non-cibles

Dans le cadre de leur plan d'action national de réduction des PPP légiféré par la Directive 2009/128/CE, les pays de l'UE doivent assurer le suivi des impacts potentiels des substances autorisées (suivi post-AMM) et quantifier les effets pour les organismes non-cibles de la mise en place de leur plan d'action. Les Etats membres s'appuient sur 2 types d'outils : le recensement des cas d'empoisonnement aux pesticides de la faune sauvage et le croisement des données sur les traitements de pesticides avec celles sur les densités des populations non-cibles (Ecophyto 2018 2008 ; Department for Environment Food and Rural Affairs 2013).

En Europe, des dispositifs nationaux de suivi des empoisonnements de la faune sauvage aux pesticides (biocides ou PPP) sont en place qui sont pour la plupart du temps inclus dans un programme de suivi des pathologies de la faune sauvage (Berny 2007). Au Royaume-Uni par exemple, le suivi de l'exposition des prédateurs aux rodenticides se fait ainsi à travers 2 dispositifs nationaux : le *Wildlife Incident Investigation Scheme* (WIIS) et le *Predatory Bird Monitoring Scheme* (PBMS). Toute personne trouvant un cadavre peut le transmettre à ces dispositifs qui quantifient, entre autres pesticides, les rodenticides AVKs dans le foie des cadavres (Predatory Bird Monitoring Scheme 2011). En France, les cadavres sont transmis par les membres du réseau SAGIR (principalement des gardes de l'Office de la Chasse et de la Faune Sauvage et des chasseurs) aux

laboratoires départementaux, où un examen nécropsique de l'animal est réalisé (Berny 2007 ; Fabre, Fevrier & Cabanettes 2011). Les rodenticides AVKs ne sont quantifiés dans les tissus de l'animal que si les circonstances de collecte du cadavre et l'examen nécropsique aboutissent à la suspicion d'un empoisonnement à ces molécules (Berny 2007). Ainsi, plusieurs inconvénients sont liés à ce type de suivi. Tout d'abord, les rodenticides ne sont pas recherchés de façon systématique ; soit parce que le cadavre est trop dégradé, soit pour cause de restriction budgétaire (Berny 2007). Ensuite, la collecte des cadavres est le fruit du hasard et les espèces collectées vont dépendre de la probabilité de retrouver leurs cadavres et de l'affinité des collecteurs pour cette espèce (Berny 2007 ; Decors & Mastain 2010) (e.g. en France, les chasseurs collectent essentiellement les espèces chassables (Lamarque *et al.* 1999 ; Fabre, Fevrier & Cabanettes 2011)).

En Europe, des suivis nationaux sont par ailleurs instaurés pour suivre l'effet des pesticides PPP sur les densités de populations non-cibles (ce qui permet d'intégrer les effets létaux et sublétaux). En France, un tel suivi (le suivi de biovigilance) est en phase de mise en place (Comité de surveillance biologique du territoire 2011). Au Royaume-Uni un suivi est déjà opérationnel au niveau national pour les espèces d'oiseaux inféodés aux espaces agricoles (Department for Environment Food and Rural Affairs 2013). Il n'existe à notre connaissance aucun dispositif similaire pour le suivi de l'effet des pesticides biocides sur les populations non-cibles.

Pour certaines substances, un suivi spécifique de post-autorisation après mise sur le marché peut être prévu lors de leur autorisation (Fabre, Fevrier & Cabanettes 2011). Lors de l'inscription de la bromadiolone sur la liste des substances PPP autorisées, l'UE a ainsi demandé des compléments d'informations sur l'efficacité des mesures proposées pour atténuer les risques pour les oiseaux et les mammifères non ciblés (Directive d'exécution 2011/48/UE de la commission européenne). En France, les demandes de suivi concernant les rodenticides AVKs biocides portent uniquement sur la résistance des rongeurs à ces molécules et jamais sur les effets de ces produits sur les organismes non-cibles (Isabelle Attig¹, comm. pers.).

Par ailleurs, certaines espèces potentiellement menacées par les pesticides ou pour lesquelles des épisodes importants d'empoisonnements sont constatés peuvent faire l'objet de suivis particuliers ; ceci afin de déterminer si les pesticides représentent une menace substantielle pour ces populations. Le Milan royal *Milvus milvus* fait l'objet d'un plan de conservation européen (Knott, Newbery & Barov 2009) et les AVKs sont considérés comme une des menaces principales pour ses populations (Berny & Gaillet 2008). En France, une étude de faisabilité du suivi des rodenticides dans le sang des jeunes capturés au nid avant l'envol est en cours (Coeurdassier *et al.* 2013).

¹¹ Chef d'unité Efficacité Biocides, Département des produits réglementés (DPR), Agence Nationale de Sécurité Sanitaire

I.5. Devenir des rodenticides anticoagulants dans l'environnement et impacts associés

I.5.1. Persistance des AVKs dans les appâts

La persistance dépend de la nature des appâts (céréale, poudre de piste, bloc de paraffine, granulé) et des molécules considérées (U.S. Environmental Protection Agency 2006). La persistance des molécules dans les appâts soumis à des conditions environnementales a été peu évaluée (O'Connor & Eason 2000). En Europe par exemple, les industriels ne sont pas tenus, dans les dossiers soumis pour évaluation des appâts, de fournir les données de persistance de la molécule dans les appâts après application. Seules les données de persistance des molécules libres dans les différents compartiments de l'environnement (eau, sols, air et organismes vivants) sont demandées (European Chemicals Bureau 2008). Dans l'eau les AVKs sont, à l'obscurité, pas ou lentement dégradés par hydrolyse (DT50 > 155 jours) et ils sont, en présence de lumière, dégradés en moins de 2,2 jours (excepté le coumafène dont la DT50 est supérieure à 54 jours) (Tableau 2). Dans les sols en aérobie à 20-25°C les FGARS ont des DT50 très variables (*e.g.* 2 à 150 jours pour le coumafène) et les SGARS ont des DT50 toujours supérieures à 70 jours exceptée la bromadiolone dont la DT50 est de 19 jours (Tableau 2).

Tableau 2. Demi-vies (DT50) des AVKs dans l'eau sous hydrolyse et photolyse et dans les sols.

	Substance active	DT50 sol	DT50 eau	
		aérobie 20-25 °C	Hydrolyse solutions de pH 4 à 9, à 25°C (*) ou 50°C (**)	Photolyse
FGARS	Chlorophacinone	47,3 jours	> 1 an **	1,3-2,2 jours
	Coumafène	2-150 jours	pas de dégradation *	> 54 jours
	Coumatétralyl	NA	pas de dégradation NA	quelques heures à 1 jour
SGARS	Brodifacoum	157 jours	173 jours-stable *	< 1 jour
	Bromadiolone	19 jours	pas de dégradation significative supposée *	11,5-14 min
	Difénacoum	439 jours	> 1 an *	3,3-8,15 heures
	Diféthialone	190-524 jours	155 jours-> 1 an *	23,4-61,9 min
	Flocoumafène	71-442 jours	> 1 an **	1,7 jours

Données issues des rapports d'évaluation européens des substances actives rodenticides : Commission Directive 98/8/EC 2007ab ; Commission Directive 98/8/EC. 2008 ; Commission Directive 98/8/EC 2009abcde

La persistance des molécules et donc l'efficacité des appâts est garantie pendant 2 ans lorsque les appâts (céréales ou granulés) sont placés dans des postes d'appâtage sécurisés (donc à l'obscurité) (Liphatech comm. pers.). Dans les milieux à fort taux d'hygrométrie (*e.g.* égoûts), les seuls appâts homologués, donc dont la persistance et l'efficacité est garantie, sont les blocs de paraffine (Liphatech comm. pers.). A notre connaissance, une seule étude (Sage *et al.* 2007) a étudié la persistance des AVKs dans des appâts céréales hors boîte d'appâtage sécurisé. Sous forme d'appâts blé, la DT50 de la bromadiolone, enterrée dans des galeries artificielles par une charrue sous-soleuse

varie de 3 à 5,1 jours en automne et de 5,4 à 6,2 jours au printemps (Sage *et al.* 2007). La mise en réserve des appâts par les rongeurs augmente la demi-vie de la molécule (42,7 jours en automne et 24,6 jours au printemps) (Sage *et al.* 2007).

I.5.2. Transfert aux êtres vivants : du rongeur au prédateur

I.5.2.a. Cinétique et métabolisme des AVKs dans les organismes

Des différences considérables existent dans l'absorption, le métabolisme et l'excrétion des différents rodenticides AVKs, ce qui conditionne par conséquent les risques d'intoxication primaire et secondaire associés à chacun d'entre eux. De façon générale, un composé rapidement métabolisé et/ou excrété par un consommateur engendrera un risque plus faible pour les consommateurs primaires et secondaires qu'un composé qui peut s'accumuler dans les organismes suite à des ingestions répétées même à des semaines voire des mois d'intervalle. Dans le cas des AVKs, l'exposition des organismes se fait principalement par voie orale (Valchev *et al.* 2008) et donc seul le devenir des AVKs suite à leur ingestion sera exposé ici. Les données utilisées dans la suite de cette partie sont toutes issues, sauf mention d'une autre référence, des rapports européens d'évaluation de ces molécules (diféthialone, Commission Directive 98/8/EC 2007a ; difénacoum, Commission Directive 98/8/EC 2007b ; bromadiolone, Commission Directive 98/8/EC. 2008 ; chlorophacinone, Commission Directive 98/8/EC 2009a ; brodifacoum, Commission Directive 98/8/EC 2009b ; flocoumafène, Commission Directive 98/8/EC 2009c ; coumafène, Commission Directive 98/8/EC 2009d ; coumatétralyl, Commission Directive 98/8/EC 2009e).

Après ingestion, les AVKs passent dans le sang au niveau des segments proximaux du tractus digestif. Ils suivent ensuite la circulation sanguine : ils rejoignent le système porte, puis le foie avant de parvenir au cœur qui envoie alors les AVKs dans l'ensemble de l'organisme. L'**absorption** des AVKs est rapide ; ils atteignent des concentrations sanguines maximales entre 4 et 24h après l'ingestion selon les doses et les composés considérés et ils sont donc rapidement distribués dans l'ensemble de l'organisme. L'absorption est par ailleurs très importante voire totale : elle est pour des faibles doses (de l'ordre de 0,5 mg/kg) au minimum de 69 % pour le flocoumafène et au maximum de 100 % pour le coumafène et la diféthialone.

L'organe de **stockage** privilégié des AVKs est le foie (Eason 2007) : les AVKs s'y fixent sur leur cible située dans la fraction microsomale hépatique, c.-à-d. sur l'enzyme de recyclage de la vitamine K, la vitamine K oxydo-réductase (VKOR) (Lasseur *et al.* 2007). Le pancréas, les reins et la rate, présentent une activité de la VKOR moins importante. Ils accumulent donc également les AVKs mais dans une moindre mesure par rapport au foie (Eason 2007). Par exemple, 10 jours après l'ingestion par des rats d'une dose de 0,25 mg/kg de brodifacoum, 74,6% de la dose était retenue dans les tissus. Les quantités étaient, en proportion, les plus élevées dans le foie (22,8%), puis dans le pancréas (2,3 %), les reins (0,8 %), la rate (0,2 %) et enfin le cœur (0,1 %). Le reste de la dose (environ 50 %) était présente dans la carcasse et la peau. Sage *et al.* (2008) ont montré que dans des campagnols piégés dans des parcelles traitées à la bromadiolone, la majeure partie des résidus de

bromadiolone était présente dans le foie ($58,7 \pm 14,2\%$ des quantités totales) ; des quantités moindres étant présentes dans la carcasse et le tube digestif (respectivement $22,1 \pm 10,5\%$ et $19,3 \pm 13,1\%$ des quantités totales).

L'**élimination** des AVKs du sang est rapide et biphasique (Vandenbroucke *et al.* 2008). L'élimination des AVKs se fait plus rapidement pendant la première phase que durant la 2^e phase et ainsi chaque phase a une demi-vie (temps pour que les concentrations diminuent de moitié) qui lui est propre (Figure 7). Par convention, les demi-vies rapportées dans la littérature sont, en absence de précision sur la phase considérée, celles correspondant à la 2^e phase d'élimination. Les FGARs sont plus rapidement éliminés avec des demi-vies dans le plasma de souris de 0,5 (coumatétralyl) à 14,9 jours (coumafène), que les SGARs dont les demi-vies sont comprises entre 20,4 (bromadiolone) et 91,7 jours (brodifacoum) (Tableau 3).

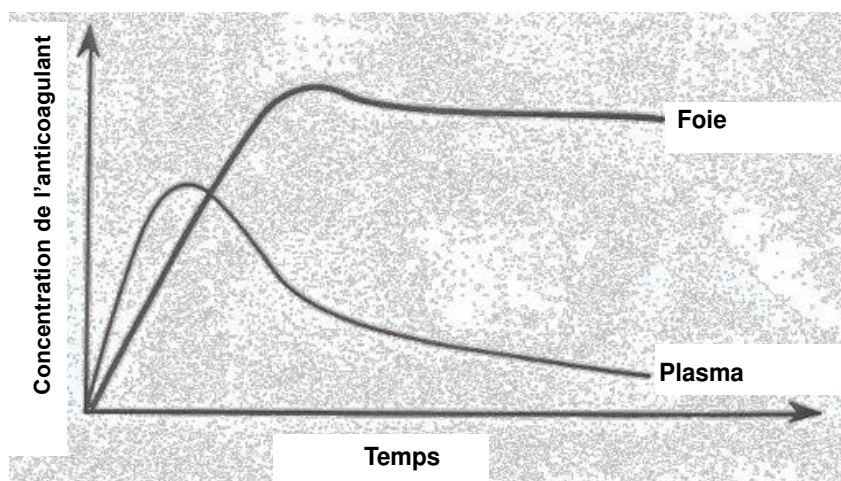


Figure 7. Représentation théorique des cinétiques plasmatiques et hépatiques des rodenticides AVKs chez le chien (Huguet 1998).

L'élimination des AVKs dans le foie est également biphasique mais est plus lente (Figure 7), en raison de la forte affinité des AVKs pour leur site de liaison hépatique. Malgré le peu d'études menées sur les FGARs, leur persistance dans le foie semble, comme dans le plasma, être inférieure à celle des SGARs (Eason *et al.* 2002 ; Berny 2011). Les demi-vies des FGARs varient de 15,8 (coumatétralyl) à 66,8 jours (coumafène) chez la souris (Tableau 3). Pour les SGARs, elles s'étalent de 28,1 (bromadiolone) à 307,4 jours (brodifacoum) chez la souris et dépassent toujours 118 jours chez le rat (Tableau 3). Le brodifacoum apparaît comme la molécule la plus persistante : *e.g.* à dose égale ingérée chez le rat et pendant les 200 jours qui suivent l'exposition, les concentrations hépatiques de brodifacoum sont toujours plus élevées (en moyenne 2 fois plus élevées à 200 jours) que celles de bromadiolone (Erickson & Urban 2004).

Les SGARs sont principalement excrétés sous forme de molécules mères alors que les FGARs sont essentiellement métabolisés (World Health Organization 1995). Environ 80 % de la dose de

chlorophacinone ingérée par des rats est métabolisée et la métabolisation du coumafène et du coumatétralyl serait très importante. La métabolisation est largement minoritaire pour le flocoumafène et la diféthialone ne serait pas du tout métabolisée. Le suivi du métabolisme de la bromadiolone, par marquage radioactif de la molécule, montre qu'environ 22 et 6 % de la radioactivité était retrouvée sous forme de molécule mère dans les fèces et le tube digestif respectivement alors que 15 et 4 % de la radioactivité correspondait à un métabolite de la bromadiolone (fèces et tube digestif respectivement).

Dans les jours qui suivent l'exposition, il y a une élimination rapide des AVKs qui ne passent pas la barrière digestive et de ceux qui ne se stockent pas dans l'organisme et qui sont rapidement éliminés du sang (Erickson & Urban 2004). L'excrétion par voie fécale est majoritaire pour la chlorophacinone et pour tous les SGARs excepté le brodifacoum pour qui les voies d'excrétion fécales et rénales sont équivalentes. L'excrétion est entièrement fécale pour la diféthialone. Pour les AVKs dont l'excrétion est essentiellement fécale, 23 (flocoumafène) à 53 % (bromadiolone) de la dose est excrétée dans les fèces dans les 7 jours qui suivent l'ingestion alors que 0.35 (flocoumafène) à 2 (difénacoum) % de la dose est excrétée par voie rénale. Pour le coumafène et la coumatétralyl, l'excrétion rénale semble dominer.

Tableau 3. Cinétique et métabolisme des AVKs. Récapitulatif des données.

Génération	Substance active	Absorption	Organe d'accumulation	Demi-vies dans le plasma (jours, chez la souris) ¹	Demi-vies dans le foie (jours, chez la souris) ¹	Demi-vies dans le foie (jours, chez le rat) ²	Forme d'excrétion dominante	Voie d'excrétion majoritaire
1	Chlorophacinone	Rapide (4 à 24 h) et efficace (69 à 100 %)	Foie essentiellement	11,7	35,4	NA	Métabolites	Fécale
	Coumafène			14,9	66,8	NA		Rénale
	Coumatétralyl			0,52	15,8	55		Rénale
2	Brodifacoum			91,7	307,4	150-200	Molécule mère	Fécale/Rénale
	Bromadiolone			33,3	28,1	170-318		Fécale
	Difénacoum			20,4	61,8	118		Fécale
	Diféthialone			38,9	28,5	126		Fécale
	Flocoumafène			26,6	93,8	215		Fécale

Toutes les données sont issues des rapports d'évaluation des molécules par l'Europe sauf 1 : issues de Vandembroucke *et al.* 2008 et 2 : mixte entre Eason *et al.* 2002 et les rapports d'évaluation des molécules par l'Europe. NA : non renseigné.

I.5.2.b. Une contamination généralisée des réseaux trophiques terrestres et notamment de ceux impliquant les rongeurs et leurs prédateurs

La persistance globalement importante des AVKs dans les appâts et dans les organismes aboutit à une contamination généralisée des réseaux trophiques par ces molécules. **Les rongeurs cibles** constituent une des voies d'entrée des AVKs dans les réseaux trophiques. Un appât biocide, pour être homologué, doit permettre de réduire les densités de la population cible d'au moins 90% lors d'essais en nature (European Union 2009). Cela suggère que les rongeurs cibles sont massivement exposés aux traitements mais, à notre connaissance, peu d'auteurs l'ont quantifié. Dans le cadre d'une lutte biocide, 30 % des 27 souris domestiques capturées (donc survivantes aux traitements) dans les 10 jours suivant la mise à disposition des appâts (Brakes & Smith 2005) et 33 % (1 sur 3) des souris capturées entre 6 et 10 semaines après les traitements (Tosh *et al.* 2012) avaient ingéré des appâts. Dans le cadre d'une lutte PPP, les individus de l'espèce cible sont massivement exposés dans les jours qui suivent les traitements : les AVKs sont retrouvés dans 94 % des 94 campagnols terrestres *Arvicola terrestris* piégés dans les galeries dans les 135 jours suivant des traitements à la bromadiolone (Sage *et al.* 2008), dans 81% des 42 campagnols de Brandt *Microtus brandti* piégés 8 jours après les traitements à la bromadiolone (Winters *et al.* 2010), dans 100 % des 12 chiens de prairie à queue noire *Cynomys ludovicianus* piégés dans le mois suivant les traitements à la chlorophacinone (Vyas, Hulse & Rice 2012) et dans 68% des 25 rats capturés pendant les 3 mois suivants des traitements au brodifacoum (Murphy *et al.* 1998).

Cependant, les rongeurs cibles ne sont pas les seuls consommateurs des appâts ; Wood & Phillipson (1977) ont estimé par piégeage photographique que 55 à 65% des appâts utilisés pour le contrôle de l'Ecureuil gris *Sciurus carolinensis* Gmelin étaient consommés par des animaux non-cibles. Certains **rongeurs non-cibles** consomment des appâts rodenticides, en particulier en Europe le Mulot sylvestre *Apodemus sylvaticus*, et moins fréquemment, le Campagnol roussâtre *Myodes glaerolus* et le Campagnol agreste *Microtus agrestis* ; la part d'individus exposés dans les 10 jours après la mise à disposition des appâts étant, respectivement pour chaque espèce, de 57, 31 et 20 % dans l'étude de Brakes & Smith (2005). Dans le cadre de la lutte PPP les espèces non-cibles sont également exposées : dans les travaux cités précédemment, 41 % de 69 campagnols des champs *Microtus arvalis* sont exposés aux traitements contre le Campagnol terrestre (Sage *et al.* 2008) et 100% des 2 spermophiles rayés *Ictidomys tridecemlineatus* sont exposés aux traitements contre le Chien de prairie à queue noire (Vyas, Hulse & Rice 2012). L'intoxication primaire concerne également les oiseaux granivores (Lambert *et al.* 2007 ; Ruder *et al.* 2011 ; Sanchez-Barbudo, Camarero & Mateo 2012), les mammifères (*e.g.* Lièvre d'europe *Lepus europaeus* ou Sanglier *Sus scrofa* ; Berny *et al.* 1997) ou les invertébrés (Spurr & Drew 1999). Les espèces insectivores (le Hérisson d'Europe *Erinaceus europaeus* ; Dowding *et al.* 2010 ou des musaraignes ; Townsend, Entwisle & Hart 1995) peuvent également consommer des appâts de façon opportuniste.

Situés aux niveaux trophiques supérieurs, les prédateurs et les charognards en ingérant des proies contaminées sont exposés de façon secondaire aux AVKs. Des études récentes reposant sur des techniques de dosage plus sensibles (détectant des quantités faibles de résidus) et échantillonnant les individus de façon relativement aléatoire, suggèrent qu'une très grande proportion des **prédateurs sauvages** sont exposés aux AVKs. Les prédateurs insectivores sont exposés aux AVKs notamment par l'ingestion d'invertébrés contaminés (Booth, Eason & Spurr 2001 ; Craddock 2001 ; Borst & Couston 2002 ; Dowding *et al.* 2006 ; Dowding *et al.* 2010) : 66,7% des hérissons analysés au Royaume-Uni sont exposés (Dowding *et al.* 2010). Les proportions d'individus exposés sont encore plus importantes pour les espèces de prédateurs de rongeurs.

Au Royaume-Uni, le réseau de surveillance des rapaces (*Predatory Bird Monitoring Scheme*) rapporte qu'au moins 81 % des effraies des clochers *Tyto alba*, 80 % des milans royaux *Milvus milvus* et 68 % des faucons crécerelles *Falco tinnunculus* analysés par an présentaient des résidus d'au moins un SGAR pendant la période 2007 à 2010 (Walker *et al.* 2010ab ; Walker *et al.* 2012). Partout où elles ont été mesurées (France ; Lambert *et al.* 2007, Danemark ; Christensen, Lassen & Elmeros 2012, Espagne ; Sanchez-Barbudo, Camarero & Mateo 2012, Canada ; Albert *et al.* 2010 et Thomas *et al.* 2011, Etats-Unis ; Murray 2011, Nouvelle-Zélande ; Fisher *et al.* 2012) les fréquences d'exposition des rapaces aux rodenticides AVKs sont élevées. Pour les mammifères, ces fréquences dépassent toujours 80 % pour les espèces étudiées au Royaume-Uni (Tosh *et al.* 2011), en France (Sage 2008), au Danemark (Elmeros, Christensen & Lassen 2011) et aux Etats-Unis (Moriarty & Riley 2012). Les SGARs, en raison de leur persistance, sont retrouvés plus fréquemment que les FGARs (Laakso, Suomalainen & Koivisto 2010).

Ces données sont d'une part collectées dans des contextes où les AVKs sont uniquement utilisés à des fins biocides (*e.g.* Danemark ; Elmeros, Christensen & Lassen 2011, Royaume-Uni ; Walker *et al.* 2012) et où les prédateurs sont susceptibles d'être exposés de façon chronique à de faibles doses d'AVKs. Certaines études ont été d'autre part menées dans des contextes où les usages PPP et biocide des AVKs co-existent (Franche-Comté en France ; Sage 2008, région de Castilla y Leon en Espagne ; Sanchez-Barbudo, Camarero & Mateo 2012) et où les prédateurs sont également exposés de façon aiguë à de grandes quantités d'AVKs. Dans certains de ces travaux, le protocole de collecte permet de suivre l'exposition des prédateurs au niveau national (analyse systématique des AVKs dans les cadavres collectés) ; *e.g.* le *Predatory Bird Monitoring Scheme* au Royaume-Uni (voir § I.4.4.b.) (Walker *et al.* 2012) ou les travaux au Danemark (Elmeros, Christensen & Lassen 2011 ; Christensen, Lassen & Elmeros 2012). Dans d'autres pays, la recherche systématique des AVKs dans les animaux collectés relève d'études localisées ; *e.g.* en France, Lambert *et al.* (2007) en Loire-Atlantique ou Sage (2008) dans le Doubs.

En dépit des différences dans les protocoles de collecte, il est possible de dire que tous les prédateurs sont fortement exposés, quel que soit le degré de spécialisation de leur régime alimentaire sur les rongeurs ciblés par les traitements AVKs. Les études citées précédemment portent d'une part sur des prédateurs au régime alimentaire spécialisé en permanence sur une espèce de rongeur et

cela quelle qu'en soit l'abondance. Le Faucon crécerelle par exemple consomme essentiellement des campagnols du genre *Microtus* (Riegert, Lovy & Fainova 2009) et au Royaume-Uni, ces espèces de rongeurs, bien que non ciblées par les traitements AVKs, y sont potentiellement exposées. Les faucons crécerelles seraient alors exposés de façon chronique à de faibles doses d'AVKS. Les études précédentes incluent également des prédateurs qui vont se spécialiser temporairement sur des espèces de rongeurs cibles en raison de leur abondance : e.g. le Renard roux ou le Milan royal qui se spécialisent sur le Campagnol terrestre dans les secteurs où il pullule en France (Raoul *et al.* 2010 ; Coeurdassier *et al.* 2012) ou la Chouette rayée *Strix varia* qui augmente la proportion de rats dans son régime lorsque son habitat s'urbanise (Hindmarch & Elliott 2012). Dans ce contexte, le contrôle chimique des populations de rongeurs entraînerait l'exposition chronique ou aiguë des espèces prédatrices à des doses potentiellement fortes d'AVKs.

I.5.3. Toxicité des AVKs pour les prédateurs : effets létaux et sublétaux

I.5.3.a. Effets létaux des AVKs

Les effets létaux des AVKs pour les prédateurs sont avérés aussi bien en laboratoire qu'en nature, les doses létales dépendant des molécules et des espèces considérées.

Les expériences en captivité montrent que les SGARs sont plus toxiques que les FGARs. Mendenhall & Pank (1980) ont comparé le danger secondaire associé à 3 SGARs (brodifacoum, bromadiolone et difénacoum) et celui associé à 3 FGARs (diphacinone, chlorophacinone et fumarine) chez des chouettes. Six des 18 chouettes exposées aux SGARs sont mortes, alors que cela n'a été le cas pour aucune des chouettes ayant consommé des rongeurs intoxiqués avec des FGARs. Le brodifacoum, la diféthialone et le flocoumafène sont les AVKs les plus toxiques en particulier pour les oiseaux. Dans les rapports européens d'évaluation des molécules, les DL50 suite à une exposition aiguë sont chez les oiseaux de 0,31 mg/kg pour le brodifacoum et de 0,26 mg/kg pour la diféthialone. Pour les autres AVKs, elles sont comprises entre 24 (flocoumafène) et plus de 2000 mg/kg (coumafène et coumatétralyl) (Tableau 4). Chez les mammifères, les DL50 sont généralement plus faibles que chez les oiseaux. Le brodifacoum et la diféthialone sont toujours parmi les molécules les plus toxiques ; ils sont associés avec la bromadiolone et le flocoumafène aux DL50 les plus faibles (DL50 comprises entre 0,13 et 0,86 mg/kg ; Tableau 4). Mais la différence avec les autres AVKs serait moins marquée que chez les oiseaux puisque les DL50 des autres composés s'échelonnent entre 1 et 50 mg/kg (Tableau 4). Cette comparaison entre mammifères et oiseaux est à prendre avec précaution puisque les DL50 utilisées ici sont les plus faibles DL50 obtenues parmi toutes les espèces testées du taxon. On suppose donc que l'espèce la plus sensible est représentative de l'ensemble du taxon. Par ailleurs, les expériences en captivité montrent que les AVKs sont plus toxiques suite à des ingestions répétées (Vyas & Rattner 2012). Par exemple, chez le rat, lorsque la dose de difénacoum est administrée de façon cumulée sur 5 jours plutôt qu'en une seule fois, la DL50 est 10 fois plus faible (AGRITOX 1998).

Tableau 4. DL50 (mg administré/kg masse corporelle) (administration unique par voie orale) indiquées dans les rapports d'évaluation des molécules par l'Union Européenne pour les groupes des oiseaux et des mammifères (la DL50 retenue pour une molécule est celle de l'espèce la plus sensible du taxon *i.e.* la plus faible DL50 obtenue parmi toutes les espèces testées).

Génération	Molécule	DL50 (mg/kg)	
		Oiseaux	Mammifères
1	Chlorophacinone	257 a	1,48-18,57.d
	Coumafène	>2000 a	1–5 e
	Coumatétralyl	>2000 b	15–30 d
2	Brodifacoum	0,31.c	0,4 d
	Bromadiolone	138 a	0,56-0,84 d
	Difénacoum	56 a	1,8-50 d
	Diféthialone	0,26 a	0,4-0,8 d
	Flocoumafène	24 c	0,13 d

Tests portant sur a : le Colin de Virginie *Colinus virginianus*, b : la Caille du Japon *Coturnix japonica*, c : le Canard colvert *Anas platyrhynchos*, d : le Rat *Rattus sp.*, e : le Cochon *Sus scrofa domesticus*

Tous les rapports européens d'évaluation des molécules ont calculé les risques d'intoxications secondaires des prédateurs en confrontant les PEC (*Predicted Environmental Concentrations*, c.-à-d. dans ce cas les concentrations présentes dans les rongeurs) aux PNEC (*Predicted No Effect Concentrations* c.-à-d. dans ce cas les concentrations ingérées qui n'ont pas d'effet sur les prédateurs). Tous les AVKs entraînent d'après ces calculs un fort risque d'intoxication secondaire des prédateurs ; en particulier pour les substances les plus persistantes : le brodifacoum et la diféthialone.

En nature, les effets létaux des AVKs sont avérés et seraient potentiellement plus importants que les effets évalués en captivité. Berny (2011) note par exemple que, malgré le faible potentiel toxique de la chlorophacinone (un chien de 10 kg devrait ingérer 6,6 kg d'appâts pour atteindre la DL50), cet AVK est l'un des plus impliqués dans la mort des animaux de compagnie en France. Deux raisons pourraient expliquer cela. D'abord, la toxicité des AVKs pourrait être moins importante dans les situations d'exposition en laboratoire que dans les situations d'exposition réelle. En nature, les animaux sont plus actifs et seraient plus sujets à des micro-hémorragies au niveau des muscles et des organes que des animaux captifs, ce qui conduirait plus rapidement à leur mort par hémorragie interne. Ensuite, les tests de toxicité en laboratoire ne sont pas menés sur des espèces prédatrices ; les données de toxicité chez les mammifères sont souvent issues de tests sur les rats et celles chez les oiseaux de tests sur le Colin de virginie *Colinus virginianus*, le Canard colvert *Anas platyrhynchos* ou la Caille du Japon *Coturnix coturnix japonica* (European Food Safety Authority 2009). Or, des tests de toxicité récents menés sur des rapaces (le Crécerelle d'Amérique *Falco sparverius* et le Petit-duc maculé *Megascops asio*) suggèrent que les rapaces sont considérablement plus sensibles aux FGARs que ce qui est prédit à partir des données de toxicité chez les espèces d'oiseaux testées traditionnellement (Rattner *et al.* 2012).

L'exposition des prédateurs à des niveaux létaux a ainsi été observée dans le cadre d'une utilisation biocide des AVKs (Berny 2007 ; Albert *et al.* 2010 ; Walker *et al.* 2012). Au Canada, où les AVKs ne sont pas utilisés en plein champs, Thomas *et al.* (2011) ont estimé qu'un minimum de 11% de la population de Grand Duc d'Amérique *Bubo virginianus* risquait de mourir suite à une intoxication aux SGARs. La lutte contre les rongeurs invasifs dans les îles entraîne également la mort des prédateurs de rongeurs. En Nouvelle-Zélande, l'utilisation du brodifacoum contre les rats a entraîné l'empoisonnement secondaire de mustélidés (Alterio 1996 ; Brown, Alterio & Moller 1998) et d'oiseaux charognards, *e.g.* le Grand corbeau *Corvus corax* (Howald *et al.* 1999) ou la Ninox boubouk *Ninox novaeseelandiae* (Eason *et al.* 2002). Les épisodes les plus importants de mortalité sont observés lors de l'utilisation des AVKs en plein champs. La mort de prédateurs a été observée suite à de traitements AVKs à large échelle (centaines de milliers d'hectares) à la bromadiolone contre le Campagnol de Brandt en Mongolie (Winters 2006 ; Winters *et al.* 2010), à la chlorophacinone et à la bromadiolone contre le Campagnol des champs en Espagne (Olea *et al.* 2009) ou encore à la chlorophacinone contre le *Spermophile* de Richardson *Spermophilus richardsonii* aux Etats-Unis (Proulx 2011). En France, en 1997 et 1998 dans le département du Doubs, respectivement 186 et 373 cas suspects ou confirmés d'empoisonnements à la bromadiolone ont été notés suite à l'utilisation de cette molécule pour lutter contre le Campagnol terrestre (Figure 8). Les rapaces représentent 37% des cadavres retrouvés dans le Doubs et en Auvergne entre 1998 et 2011, la Buse variable *Buteo buteo* étant la plus fréquemment intoxiquée suivie par le Milan royal (75 et 19% des rapaces respectivement). Le Renard roux représente 22% des cadavres (soit 36% des mammifères) retrouvés pendant la même période. Sanglier et Lièvre d'Europe représentent respectivement 19 et 9% des cadavres. Ces taxons (rapaces, renards, sangliers et lièvres) représentent 87% des cadavres ramassés.

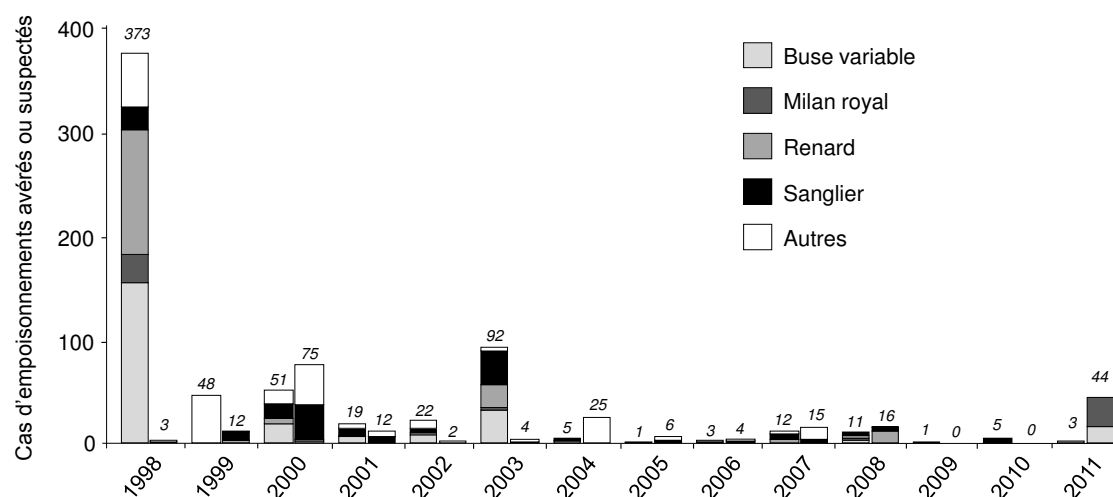


Figure 8. Evolution de la mortalité de la faune sauvage dont la mort par intoxication aux anticoagulants est confirmée ou suspectée dans le Doubs (histogramme de gauche) ou en Auvergne (histogramme de droite) depuis 1998 (données SAGIR-réseau ONCFS-FNC-FDC). Le nombre de cas est reporté en italique au-dessus de chaque histogramme (Couval *et al.* 2013a).

1.5.3.b. Effets sublétaux des AVKs

Si les effets létaux des AVKs sont évidents, leurs effets sub-létaux restent peu documentés. En captivité, les effets notés lors des tests de toxicité sur la reproduction sont souvent les signes cliniques classiques liés à une intoxication aux AVKs ; c.-à-d. des hémorragies internes menant possiblement à la mort (Tableau 5). Des troubles du développement embryonnaire peuvent subvenir à des doses non létales pour la mère : e.g. chez le rat des doses au moins égales à 12,5 µg de chlorophacinone / kg /jour n'entraînent pas d'effet visible chez la mère mais entraînent des malformations de l'urètre chez l'embryon. De multiples effets repro-toxiques ont été montrés chez la Caille du Japon *Coturnix japonica* pour le difénacoum : augmentation de la mortalité chez les parents et chez les oisillons de 14 jours, augmentation du poids du foie et de la rate, diminution du nombre d'œufs pondus /femelle /jour et de la viabilité des œufs (la dose observée sans effet est de 58 µg/kg de masse corporelle mais la durée d'exposition n'est pas renseignée) (Commission Directive 98/8/EC 2007b). Pour cette même molécule, des effets possibles sur les fonctions ovariennes (perturbation du cycle menstruel et formation de kystes ovariens) sont mentionnés chez le rat (Commission Directive 98/8/EC 2007b).

En nature, s'il est régulièrement supposé que les troubles de la coagulation associés à une exposition sub-létale affectent le potentiel de récupération des animaux victimes de collision ou de blessures (Brakes & Smith 2005), cela n'a jamais été fermement démontré à notre connaissance. Par ailleurs, la vitamine K intervient dans le métabolisme des os et la fréquence de fracture et d'ostéoporose (fragilité des os) serait plus élevée chez les humains exposés à une thérapie prolongée aux AVKs (soin des troubles de la coagulation). Chez le rat, l'administration de coumafène à des doses de 0,25 mg/ kg de masse corporelle entraîne la fragilisation des os du fémur (force de résistance réduite de 8%) (TOXNET 2009). Cependant, l'unique étude (Knopper *et al.* 2007) s'étant penchée sur le sujet n'a pas trouvé de lien entre la contamination aux AVKs et la fragilité des os chez des rapaces sauvages.

Les AVKs affectent néanmoins l'état général des individus exposés. Dans la plupart des cas les animaux exposés sont faibles, ont des réactions et des mouvements plus lents, ce qui les rendrait plus sujets à des accidents (collision routière par exemple), et augmenterait leur vulnérabilité face à la prédation ou aux infections (Lambert *et al.* 2007). Aucun lien entre la cause de la mort (classée en 3 catégories : collision, tirs ou indéterminée) et la contamination aux AVKs n'est trouvée chez les rapaces (n~150) au Danemark (Christensen, Lassen & Elmeros 2012). De même, aucune corrélation n'est établie entre les concentrations en AVKs et la condition corporelle chez 3 rapaces nocturnes au Canada (n= 164) (Effraie des clochers *Tyto alba*, Chouette rayée *Strix varia* et Grand Duc d'Amérique *Bubo virginianus*) (Albert *et al.* 2010). Cependant, une corrélation négative entre la contamination aux AVKs et la condition corporelle a été retrouvée chez d'autres espèces : chez l'Hermine *Mustela erminea* et la Belette *Mustela nivalis* (respectivement 61 et 68 individus analysés au Danemark, (Elmeros, Christensen & Lassen 2011), et chez plusieurs espèces de rapaces (Faucon crécerelle, Chouette hulotte *Strix aluco* et Buse variable) (53 individus analysés en Espagne, Pereira 2010).

Tableau 5. Résultats des tests de toxicité des AVKs (administration orale) sur la reproduction. LOAEL (*lowest observed adverse effect level*, plus petite dose ayant un effet néfaste observable en µg/kg de masse corporelle/ jour) et NOAEL (*no observable adverse effect level* plus forte dose sans effet néfaste observable en µg/kg de masse corporelle/ jour) chez les femelles gravides et chez le fœtus et l'embryon.

Sujet	Substance active	Signes cliniques observés	Durée exposition (jours)	Espèce	LOAEL (µg/kg/ jour) ¹	NOAEL (µg/kg/jour) ²
femme gravide	brodifacoum	hémorragies et mort	12	lapin**	5	2
	brodifacoum	avortements et hémorragies	NA	rat	10	1
	bromadiolone	saignements utérins	12	lapin	8	4
	bromadiolone	hémorragies et mort	9	rat	70	35
	chlorophacinone	temps de coagulation (PT et APTT)	13	lapin*	10	5
	chlorophacinone	mort	10	rat*	100	50
	coumatétralyl	hémorragies et mort	28	lapin	25	12,5
	coumatétralyl	hémorragies et mort	NA	rat	70	35
	dife	hémorragies	22	lapin	1	NA
	énacoum	hémorragies	13	lapin	>5	5
	difénacoum	hémorragies	NA	rat	>30	30
	diféthialone	hémorragies et mort	NA	lapin	10	5
	diféthialone	aucun	NA	rat	NA	>50
	flocoumafène	avortements et hémorragies	NA	lapin	>2	2
	flocoumafène	hémorragies et mort	NA	rat	>20	20
embryon et fœtus	brodifacoum	aspect hémorragique du fœtus	12	lapin**	5	2
	brodifacoum	aucun	9	rat**	NA	>20
	bromadiolone	aucun	12	lapin	NA	>8
	bromadiolone	aucun	9	rat	NA	>70
	chlorophacinone	aucun	13	lapin*	NA	>10
	chlorophacinone	anomalies de l'urètre	10	rat*	≤12,5	<12,5
	coumafène	hémorragies des fœtus, malformations des pattes arrière et de l'hydrocéphale interne, dommages métaboliques du foie	NA	rat	>40	40
	coumatétralyl	aucun	NA	lapin	NA	>25
	coumatétralyl	aucun	NA	rat	NA	>140
	difénacoum	aucun	22	lapin	NA	>10
	difénacoum	aucun	NA	rat	NA	>90
	diféthialone	aucun	NA	lapin	NA	>10
	diféthialone	aucun	NA	rat	NA	>50
	flocoumafène	aucun	NA	lapin	NA	>4

Toutes les données sont issues des rapports d'évaluation des substances actives de l'Europe (références dans le § I.5.2.a.) sauf celles marquées d'un * qui sont issues de (United States Environmental Protection Agency 1998) et celles marquées de ** qui sont issues de (TOXNET 2012). Les effets dont la police est en rouge sont des effets notés à des doses non létales.

¹ le signe supérieur indique que la LOAEL n'était pas précisée, NA signifie qu'aucun effet n'a été noté à la plus haute dose testée

² le signe > indique que la dose indiquée est la plus haute dose testée

Par ailleurs, une relation positive entre l'exposition à ces molécules et la prévalence de pathogènes a été mise en évidence pour le Lynx roux *Lynx rufus* (Riley *et al.* 2007 ; Moriarty & Riley 2012) la Grande Outarde *Otis tarda* (Lemus *et al.* 2011) et le Campagnol des champs (Vidal *et al.* 2009). Dans un contexte où la faune prédatrice est largement exposée à de faibles doses d'AVKs et où les premières évidences d'effets sublétaux sont données dans des conditions naturelles, les conséquences de cette exposition sublétales à l'échelle des populations restent à quantifier.

I.6. Enjeux face à l'exposition généralisée des prédateurs de rongeurs aux rodenticides AVKs

Au vu des enjeux sanitaires et économiques associés à la lutte contre les rongeurs, les AVKs ont été récemment ré-homologués (notamment en Europe et aux Etats-Unis) et cela malgré les risques que représentent les AVKs pour la faune non-cible, notamment pour les prédateurs de rongeurs. Les AVKs sont en effet à ce jour les molécules disponibles les plus efficaces pour lutter chimiquement contre les rongeurs. Lors de l'évaluation de ces molécules, il est cependant préconisé de mettre en place des mesures visant à limiter le transfert des AVKs vers les prédateurs. Ces mesures permettent, dans un scénario optimal, de maximiser l'éradication des espèces cibles tout en empêchant l'exposition des espèces non-cibles. Pour optimiser l'efficacité de ces mesures, les connaissances sur le transfert des AVKs aux rongeurs et aux prédateurs doivent être étoffées. Par ailleurs, l'évaluation de l'efficacité de ces mesures passe par le développement d'outils qui permettent de mesurer dans l'espace et dans le temps l'exposition et les effets des AVKs chez les populations de prédateurs (Christensen, Lassen & Elmeros 2012).

I.6.1. Mieux comprendre ce qui régit les transferts

L'empoisonnement secondaire des prédateurs de rongeurs aux AVKs est bien documenté et cela mondialement. Cependant les voies de transfert par lesquelles ces composés atteignent les espèces non-cibles n'ont été que peu étudiées (Bartos *et al.* 2012). Les points sur lesquels l'apport de connaissance semble prioritaire sont listés ci-après.

I.6.1.a. Documenter et spatialiser l'exposition des rongeurs cibles et non-cibles

Les études portant sur l'exposition des rongeurs, qu'ils soient cibles ou non-cibles des traitements AVKs, sont peu nombreuses et une meilleure caractérisation du risque d'intoxication secondaire pour les prédateurs passe par une amélioration des connaissances sur 3 points principaux.

I.6.1.aa. Quantifier in situ les résidus d'AVKs présents dans les différentes espèces de rongeurs dans les 2 contextes d'utilisation des AVKs

Dans les 2 contextes d'usage, les résidus d'AVKs ont été quantifiés lors d'essais en nature dans les espèces cibles des traitements : voir en contexte PPP Giraudoux *et al.* 2006 ; Winters 2006 ; Sage 2008 ; le rapport d'évaluation de la chlorophacinone Commission Directive 98/8/EC 2009a ; Winters *et al.* 2010 ; et Vyas, Hulse & Rice 2012 ; en contexte biocide voir Tosh *et al.* 2012 ; et voir Erickson & Urban 2004 pour la synthèse des données disponibles dans les rats, les campagnols, les souris, les géomydés et les spermophyles.

Dans un contexte d'utilisation biocide des AVKs et à notre connaissance, seules 6 études ont été menées *in situ* pour caractériser la contamination des rongeurs non-cibles (Harradine 1976 ; Wood & Phillipson 1977 ; Cox & Smith 1990 ; Townsend, Entwisle & Hart 1995 ; Brakes & Smith 2005 ; Tosh *et al.* 2012 ; voir aussi § I.5.2.b.). Des données sont également rapportées dans le rapport européen d'évaluation du flocoumafène en tant que biocide (Commission Directive 98/8/EC 2009c). Trois études ne portent que sur les FGARs (Harradine 1976 ; Wood & Phillipson 1977 ; Brakes & Smith 2005). Dans l'étude de Tosh *et al.* (2012), les résidus des SGARs sont quantifiés mais pour un nombre restreint d'individus (n=67) appartenant seulement à 2 espèces : la Souris domestique et le Mulot sylvestre. Dans le rapport d'évaluation du flocoumafène, les résidus sont quantifiés mais sont mentionnés sans distinction des espèces et pour une molécule, le flocoumafène, dont les quantités utilisées en Europe sont faibles par rapport aux autres substances actives (Commission Directive 98/8/EC 2009c). Dans les autres études, la preuve de l'exposition des rongeurs aux appâts repose uniquement sur l'observation des consommations (Wood & Phillipson 1977 ; Brakes & Smith 2005) ou sur la recherche dans le corps (Townsend, Entwisle & Hart 1995) ou les fèces (Brakes & Smith 2005) des rongeurs de marqueurs déposés dans les appâts.

Si la présence d'appâts attire dans un contexte d'usage biocide, des espèces de surface non-cibles au régime alimentaire généraliste, comme le Mulot sylvestre ou le Campagnol roussâtre (Brakes & Smith 2005) ; l'exposition de ces espèces dans un contexte de lutte PPP reste à ce jour pas ou peu renseigné. Dans ce contexte, seuls Sage (2008) et Vyas, Hulse & Rice (2012) renseignent l'exposition des rongeurs non-cibles aux AVKs et parmi ces rongeurs, seuls 2 individus d'une espèce généraliste, le Spermophile rayé, collectés sur des parcelles traitées à la chlorophacinone contre le Chien de prairie à queue noire ont été analysés (Vyas, Hulse & Rice 2012).

L'amélioration des connaissances sur le transfert des AVKs passe donc en premier lieu par une plus ample quantification des résidus de ces molécules dans les espèces cibles et non-cibles, et cela dans les 2 contextes d'usage des rodenticides.

I.6.1.ab. Déterminer pour chaque espèce l'influence du sexe et de l'âge sur l'exposition des rongeurs

La mobilité des rongeurs influencerait leur exposition aux AVKs. En effet, le Mulot sylvestre serait particulièrement exposé aux AVKs en raison de sa plus grande mobilité (Brakes & Smith 2005). Or, chez les rongeurs la mobilité peut être fonction du **sexe**. Chez le Mulot sylvestre, des excursions à plus grande distance (> 1 km) sont plus fréquentes chez les mâles que chez les femelles (Quéré & Le Louarn 2011). De même, chez le Rat surmulot, dans des parcelles cultivées, les déplacements des mâles sont plus élevés (600 m en moyenne) que ceux des femelles (moyenne de 340 m). Tosh *et al.* (2012) n'ont pas trouvé d'influence du sexe sur la contamination des mulots et souris analysés mais le nombre réduit d'individus inclus dans les analyses (55 mulots et 12 souris) limitait leur puissance statistique. Chez le Campagnol terrestre et sur une parcelle traitée à la bromadiolone, les carcasses des femelles présentaient de plus fortes concentrations de bromadiolone que les mâles (Sage *et al.* 2008). Or les femelles de campagnols terrestres seraient moins mobiles que les mâles en raison de domaines vitaux moins étendus et d'une tendance plus faible à la dispersion. Dans le cas de traitements PPP en plein champ, ces données laissent supposer que la moins grande mobilité des femelles et donc leur cantonnement sur les parcelles traitées augmenteraient leur exposition aux appâts par rapport aux mâles. L'influence du sexe sur l'exposition aux AVKs reste à déterminer dans les 2 contextes d'usage des rodenticides.

Si la probabilité d'exposition aux AVKs augmente avec la durée de vie des rongeurs, **l'âge** influence également leur mobilité et donc leur exposition potentielle aux AVKs. Chez le Campagnol roussâtre par exemple, la mobilité est fonction de la maturité sexuelle des individus ; les individus mâtures étant moins mobiles que les sub-adultes (Rajska-Jurgiel 2000 ; Escutenaire *et al.* 2002). Si dans un contexte de traitement PPP, Sage *et al.* (2008) n'ont pas trouvé d'influence de l'âge sur les concentrations en bromadiolone de campagnols terrestres, l'influence de l'âge sur la contamination de rongeurs dans un contexte de traitements biocides n'a jamais été évaluée.

La mobilité des rongeurs, si elle favorise leur exposition aux AVKs, augmenterait également leur chance d'être prélevés par les prédateurs (Norrdahl & Korpimäki 1998). Par exemple, au printemps, les mâles d'effraies des clochers capturent plus de mâles de campagnols des champs car ces derniers sont plus mobiles que les femelles lors de la saison de reproduction (Taylor 2009). La sélection des proies peut également s'opérer en fonction de leur âge et/ou de leur taille (Pettorelli *et al.* 2011) (cas de l'Effraie des clochers et de la Chevêche des terriers *Athene cunicularia* par exemple ; Bueno & Motta-Junior 2008). Documenter l'influence du sexe et de l'âge des rongeurs sur leur exposition permettrait donc également de mieux comprendre les voies de transfert des AVKs vers les prédateurs.

I.6.1.ac. Préciser la variabilité saisonnière et spatiale des contaminations des rongeurs

La variabilité d'exposition des rongeurs non-cibles peut être grande, puisque la part d'individus exposés varie de 32 à 67 % entre les sites dans l'étude de Brakes & Smith (2005). Aucune étude n'a cependant porté sur les **variations saisonnières** des contaminations au sein d'un même site. Or l'intensité des traitements et la structure des populations de rongeurs cibles et non-cibles varient selon les saisons. Certaines espèces de rongeurs, alors que leurs densités sont à leur maximum après la saison de reproduction, reviennent en automne dans les bâtiments lors de l'arrivée du froid (Harris *et al.* 1995), ce qui entraîne une augmentation des traitements rodenticides biocides (cf § I.3.3.).

Dans les 2 contextes d'usage des rodenticides, il existe peu de données qui permettent de caractériser **l'étendue spatiale** des contaminations par rapport aux zones de traitement. Or, les rongeurs peuvent se déplacer sur de grandes distances (par exemple le Campagnol roussâtre peut se déplacer sur des distances allant jusqu'à 2-3 km ; Razzauti *et al.* 2008), ce qui peut diffuser la contamination aux AVKs autour des zones traitées (bâtiments ou parcelles traitées à des fins PPP). Townsend, Entwisle & Hart (1995) ont piégé des individus exposés de Mulot sylvestre jusqu'à 80 m des zones traitées. Tosh *et al.* (2012) ont piégé des rongeurs jusqu'à 260 m des fermes et montrent que des mulots sylvestres contaminés sont retrouvés à 110 m des zones traitées les plus proches. Cependant le nombre restreint d'individus positifs (n=12) n'a pas permis de mettre en évidence une structure spatiale des contaminations par rapport aux traitements : aucun lien n'a par exemple été fait entre la distance aux habitations et la contamination des rongeurs. Dans un contexte de lutte PPP aucune donnée n'existe sur l'étendue spatiale des contaminations autour des traitements car jusqu'à maintenant, le suivi d'intoxications des rongeurs s'est limité aux parcelles traitées.

Caractériser les variations saisonnières et spatiales d'exposition des rongeurs permettrait de mieux définir le risque d'intoxication secondaire des prédateurs dont l'occupation de l'espace et le régime peuvent varier de manière saisonnière. Birks (1998) et Shore *et al.* (2003) soulignent par exemple que le Putois d'Europe *Mustela putorius* serait au Royaume-Uni particulièrement exposé aux AVKs puisqu'il chasse principalement en automne et en hiver des rats autour des bâtiments agricoles, alors que les traitements rodenticides sont les plus intensifs.

I.6.1.b. Déterminer les facteurs environnementaux modulant l'exposition des prédateurs

I.6.1.ba. Développer des outils de mesure d'exposition chez les prédateurs

A l'heure actuelle, la mesure de l'exposition des prédateurs est basée sur le dosage des résidus d'AVKs dans **le foie**, organe d'accumulation de ces molécules. Cependant, il apparaît complexe de faire le lien entre l'exposition et un schéma donné de traitements rodenticides (Laakso, Suomalainen & Koivisto 2010) car si la présence de résidus nous informe que l'animal a été exposé, il n'est pas possible de savoir quand et où l'animal l'a été (Berny 2011). En effet, étant donné la persistance hépatique des AVKs, les résidus mesurés peuvent correspondre à des expositions ayant eu lieu à des

dates et dans des lieux distincts au cours des mois précédant la mort de l'animal, ce qui pose en particulier problème pour des animaux très mobiles comme certains rapaces. Par ailleurs, la mesure d'exposition aux AVKs dans le foie nécessite d'avoir un animal mort. Pour suivre les expositions à des niveaux sublétaux, les animaux doivent être prélevés par tir ou piégeage. Mais, si les espèces étudiées sont protégées, l'obtention d'échantillons est alors dépendante de la découverte de cadavres (qui sont en particulier collectés dans le cadre des réseaux de surveillance de la faune sauvage, cf I.4.4.b.) et donc des causes de mortalité autres qu'un empoisonnement aux AVKs (Sanchez-Barbudo, Camarero & Mateo 2012). La quantification des résidus dans **le plasma** des prédateurs est marqueur d'une exposition plus récente que dans le foie (Vandenbroucke *et al.* 2008). Mais l'obtention d'échantillons nécessite cette fois la capture des individus, et donc une procédure d'échantillonnage lourde à mettre en œuvre.

Rapaces et renards sont particulièrement exposés aux AVKs (*cf* § I.5.2.b.), et ils représentent une grande part des intoxications létales (*e.g.* 59% des cas dans le cadre de traitements PPP en France entre 1998 et 2011, *cf* § I.5.3.a.). Or, leur exposition aux AVKs peut être également mesurée par la quantification des résidus dans les **pelotes** de rapaces ou dans les **féces** de rapaces et de carnivores. Suite à l'ingestion de souris contaminées au flocoumafène, des effraies des clochers ont excrété 44 % du flocoumafène ingéré dans leurs pelotes et 18 % dans leurs féces au cours du jour de l'exposition et des 7 jours suivants (Eadsforth *et al.* 1991). Gray, Eadsforth & Dutton (1994) ont exposé des effraies des clochers en les nourrissant pendant 15 jours avec des souris intoxiquées au brodifacoum, au difénacoum ou au flocoumafène : en moyenne, les quantités d'AVKs régurgitées dans les pelotes quotidiennement correspondent à 25% des quantités ingérées quotidiennement.

En captivité, les concentrations de bromadiolone dans les féces de renards exposés diminuent rapidement (première demi-vie de 1 à 2 jours) et de façon exponentielle mais restent détectables pendant les 26 jours qui suivent leur exposition (Sage *et al.* 2010). Sur une zone de traitements PPP, la bromadiolone a été détectée dans près de la moitié des féces collectées 15 à 45 jours après les traitements (Sage 2008). Tous les SGARs sont excrétés inchangés et essentiellement par voie fécale ou de façon co-dominante avec la voie rénale (brodifacoum) (Tableau 3). Mesurer une exposition au coumafène et au coumatétralyl par la quantification de leurs résidus dans les féces ne semble pas applicable puisqu'ils sont presque entièrement métabolisés et sont essentiellement excrétés par voie rénale (Tableau 3). Si la chlorophacinone est également métabolisée, elle est excrétée par voie fécale (Tableau 3). Ainsi, la collecte de féces apparaît comme une méthode permettant de suivre l'exposition récente des carnivores aux AVKs (SGARs et possiblement chlorophacinone) les plus impliqués dans les empoisonnements de la faune sauvage (Berny *et al.* 2010). L'obtention d'échantillons n'est pas un facteur limitant, en particulier pour une espèce commune et ubiquiste comme le renard. Des collectes ont en effet pu être menées à large échelle pour un suivi épidémiologique (suivi des niveaux d'infection à *Echinococcus multilocularis* ; Raoul *et al.* 2003), pour le suivi indiciaire des densités de renard (Webbon, Baker & Harris 2004), le suivi d'exposition à la bromadiolone utilisée en plein champ (Sage 2008) ou encore l'étude du régime alimentaire (Delibes-Mateos *et al.* 2008). Cette méthode non

invasive permettrait donc de standardiser des suivis d'exposition (Sanchez-Barbudo, Camarero & Mateo 2012), et cela potentiellement sur de vastes échelles spatiales (Berny 2011).

Cependant, les **biais et l'applicabilité de la méthode de mesure d'exposition dans les fèces** restent à préciser *in situ*. Les critères de morphométrie, d'odeur ou encore d'emplacement des fèces sont utiles dans la différenciation des fèces des différentes espèces de carnivore mais ils ne sont pas fiables à 100 % (Chame 2003 ; Dinkel *et al.* 2011). Des tests génétiques permettraient donc d'évaluer la possibilité de mesurer l'exposition d'une espèce en particulier (Vaniscotte *et al.* 2011). Après l'excrétion des fèces dans l'environnement, les AVKs qu'elles contiennent sont sans doute dégradés sous l'action des micro-organismes et de la lumière (voir Tableau 2 pour les DT50 dans le sol et l'eau). L'obtention de fèces récentes pourrait alors être essentielle pour mesurer l'exposition *in situ*. La collecte des fèces sur des crottoirs régulièrement visités permettrait d'obtenir des fèces récentes et d'âge connu mais cette méthode ne peut être aisément appliquée sur de grandes échelles spatiales et son efficacité reste à optimiser (Sage 2008). Il reste à déterminer si un indice de fraîcheur des fèces peut être utilisé pour quantifier le biais lié à la dégradation des fèces après leur excrétion. Concernant la pertinence de la méthode, 2 questions apparaissent prioritaires. Est-il possible de faire le lien entre la mesure d'exposition et les schémas de traitements rodenticides (organisation spatiale, intensité,...) ? Enfin, dans un contexte biocide où les prédateurs sont exposés à de faibles doses, est-il possible de retrouver des AVKs dans les fèces échantillonnées *in situ* ?

I.6.1.bb. Faire le lien entre mesure d'exposition, usages des rodenticides et régime alimentaire des prédateurs

Bien que cela reste peu démontré, le **régime alimentaire** est considéré comme un facteur majeur d'influence de l'exposition aux AVKs (Laakso, Suomalainen & Koivisto 2010 ; Thomas *et al.* 2011 ; Shore *et al.* 2012). La fréquence d'exposition aux SGARs du Renard roux est plus grande en Irlande du Nord que dans le reste du Royaume-Uni, et les auteurs l'ont attribué au fait que le cortège de proies est plus réduit en Irlande du Nord. Ainsi les renards y consomment plus de rongeurs commensaux et de mulots sylvestres (espèce non-cible particulièrement exposée aux AVKs) que dans le reste du Royaume-Uni (Tosh *et al.* 2011). De même, chez l'Effraie des clochers, l'exposition aux SGARs augmenterait avec la proportion de mulots sylvestres dans le régime (Shore *et al.* 2012). Les isotopes stables ont été utilisés pour faire le lien entre le niveau d'exposition des renards et leur niveau trophique (Shore *et al.* 2012). Les renards exposés sont situés à un plus haut niveau trophique que les renards non exposés, ce qui est attribué au fait que les espèce proies susceptibles de contenir le plus d'AVKs (*e.g.* Rat surmulot ou Mulot sylvestre) sont à un niveau trophique plus élevé que celui des rongeurs non ou moins exposés (rongeurs plus herbivores comme le Campagnol agreste) (Shore *et al.* 2012).

L'usage des rodenticides est également susceptible d'influencer l'exposition des prédateurs. A large échelle, l'exposition de la faune sauvage est liée aux usages des SGARs. En Grande-

Bretagne, le difénacoum et la bromadiolone sont les plus utilisés, leur usage est autorisé à l'extérieur des bâtiments, et ce sont ces 2 composés qui sont retrouvés le plus fréquemment chez les prédateurs (toutes causes de mort confondues) (Dowding *et al.* 2010 ; Walker *et al.* 2010ab ; Buckle & Prescott 2012). En France (Figure 9 ; Berny *et al.* 2010) et en Espagne (Sanchez-Barbudo, Camarero & Mateo 2012), les molécules les plus retrouvées sont celles autorisées pour un usage PPP (la chlorophacinone et la bromadiolone) mais ces suivis ne sont pas représentatifs de l'exposition réelle de la faune sauvage aux AVKs. En effet les niveaux d'exposition mesurés sont essentiellement létaux puisqu'issus d'animaux dont la cause de la mort suspectée est l'empoisonnement aux AVKs. L'analyse du lien entre usages et exposition hépatique est de plus rendue complexe par la persistance variable des AVKs dans le foie (Albert *et al.* 2010). Ainsi, au Danemark les rapaces sont faiblement exposés au coumatétralyl au regard des quantités vendues, alors que la tendance est inverse pour les SGARs (Christensen, Lassen & Elmeros 2012). Il n'est pas possible de savoir si cela est dû à la restriction de l'usage du coumatétralyl aux dératisseurs puisque cette molécule a une persistance hépatique plus faible que celle des SGARs.

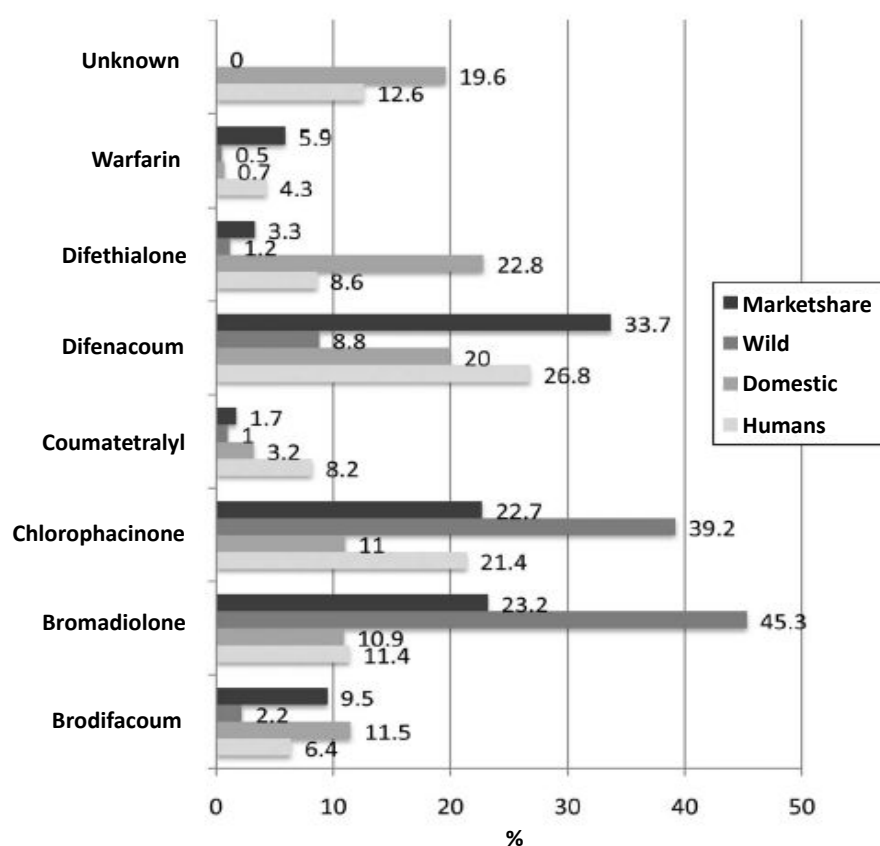


Figure 9. Distribution des fréquences (%) d'expositions aux composés anticoagulants chez les humains (n=770), les animaux domestiques (n=1269) et les animaux sauvages (n=185) et comparées aux parts de marché de ces composés en France (Berny *et al.* 2010).

L'usage des AVKs et le régime alimentaire des prédateurs peuvent co-varier. Au Canada par exemple, l'exposition de la Buse à queue rousse *Buteo jamaicensis* augmente dans les régions les plus anthropisées (aussi bien dans les milieux urbains qu'agricoles) parce qu'elle y consomme plus de rongeurs et que les AVKs y sont plus utilisés (Thomas *et al.* 2011). L'augmentation des densités de Campagnol terrestre dans certaines régions de France entraîne une spécialisation des prédateurs sur cette espèce proie, et le contrôle du campagnol avec la bromadiolone entraîne un empoisonnement massif des prédateurs (Berny *et al.* 1997 ; Berny & Gaillet 2008). Cependant les prédateurs se spécialisent à des degrés divers sur le Campagnol terrestre. Dans une zone de pullulation de Campagnol terrestre, cette proie est retrouvée dans 100% des pelotes de Milan royal analysées (Coeurdassier *et al.* 2012). Bien que le renard et l'Effraie des clochers consomment plus de campagnols terrestres quand les densités de cette espèce proie augmentent, ils le font à des degrés variables (Bernard *et al.* 2010 ; Raoul *et al.* 2010). Ainsi, la fréquence d'occurrence du Campagnol terrestre dans les fèces de renards varie d'environ 18 à 80 % pour les plus fortes densités de campagnols notées (densités relatives comprises entre 0,4 et 0,55) (Raoul *et al.* 2010). A la variabilité des réponses alimentaires des prédateurs s'ajoute celle des scénarii de traitements (intensité des traitements, disposition spatiale des parcelles traitées) pour des densités de campagnols similaires. L'utilisation des fèces permettrait de confronter les informations sur l'exposition des prédateurs (dosage des résidus), celles sur le régime alimentaire (identification des macro-restes) et celles sur les traitements rodenticides. Ainsi, le risque d'exposition des prédateurs pourrait être caractérisé et, idéalement, des situations « à risque » pourraient être identifiées.

I.6.2. Mesurer les effets des traitements rodenticides sur les populations de prédateurs

I.6.2.a. Développer des outils non invasifs de mesure des effets

Les effets des AVKs sont déduits des **symptômes hémorragiques** notés lors de l'examen clinique des animaux (Murray 2011 ; Thomas *et al.* 2011). Ces mesures sont dépendantes, comme expliqué précédemment, de la découverte de cadavres ou nécessitent leur prélèvement par tirs ou piégeage. Les effets des AVKs peuvent être également appréhendés par le **dosage des AVKs dans le plasma et par la mesure des temps de coagulation** (Boermans *et al.* 1991 ; Kolfclauw, Alvarez & Matray 1995 ; Mount, Kim & Kass 2003 ; Murray & Tseng 2008 ; Webster 2009 ; Rattner *et al.* 2010 ; Rattner *et al.* 2011 ; Rattner *et al.* 2013). Cependant ces mesures nécessitent, pour les animaux sauvages, leur capture. De plus, Sage *et al.* (2010) notent une variabilité inter-individuelle des temps de Quick chez le renard, celui de l'un des individus testés étant supérieur de 63% au temps moyen des 10 individus testés dans l'expérience. Si une telle variabilité est avérée, le suivi des effets des AVKs en nature nécessiterait alors de capturer au moins 2 fois les animaux ; la première capture permettant, en absence de traitements sur la zone, de mesurer le temps de Quick de référence propre à chaque individu ce qui s'avèrerait être peu opérationnel. Les animaux intoxiqués présentant du sang dans leurs fèces (Valchev *et al.* 2008), il peut être envisagé de rechercher des **traces d'hémoglobine**

dans les fèces échantillonnées *in situ*, et d'ainsi développer une méthode de mesure non invasive des effets des AVKs.

Des tests de détection du sang dans les fèces ont été développés chez l'Homme, notamment pour la détection du cancer colorectal (Faivre, Dancourt & Lejeune 2012). Des tests immunologiques sont utilisés mais ils sont spécifiques de l'hémoglobine humaine (Faivre, Dancourt & Lejeune 2012) et l'utilisation de tels tests pour la détection des hémorragies causées par les AVKs nécessiterait donc la mise au point de tests sur l'hémoglobine des espèces de prédateurs de rongeurs. Des tests non spécifiques de l'hémoglobine humaine, des tests au gaïac, sont par ailleurs utilisés pour les tests de dépistage du cancer colorectal chez l'Homme (notamment le test Hemoccult II®) (Faivre, Dancourt & Lejeune 2012). Ces tests reposent sur la détection de l'activité peroxydase de l'hème (Winawer 2007), et sont donc applicables pour la détection du sang dans les fèces d'espèces sauvages. Cependant, les peroxydases des aliments ingérés (fruits ou viande rouge) peuvent rendre le test positif (Winawer 2007). L'applicabilité des tests au gaïac pour la détection des hémorragies internes causées par les AVKs est donc à vérifier dans les fèces d'animaux prédateurs. La mesure d'exposition aux AVKs ayant été développée dans les fèces de renard, il apparaît judicieux de développer en priorité la mesure des effets dans les espèces de cette espèce, ce qui permettrait de relier les 2 informations.

I.6.2.b. Mesurer les effets des AVKs et l'efficacité des mesures de limitation du risque sur les populations

L'exposition aux AVKs, en ajoutant une cause de mortalité supplémentaire chez des espèces en danger d'extinction, peut être dramatique pour ces populations (Brakes & Smith 2005). Par ailleurs, les prédateurs sont exposés de façon généralisée à de faibles doses d'AVKs (que ce soit des espèces communes ou menacées), et si des effets sublétaux en découlaient, ce serait l'ensemble des prédateurs qui seraient alors potentiellement affectés (Berny 2011). Ainsi, les rodenticides pourraient être impliqués dans le déclin de certaines espèces menacées comme le Milan royal en France (Berny & Gaillet 2008) ou dans celui d'espèces communes comme l'Effraie des clochers au Canada (Albert *et al.* 2010). Aucun lien n'a pu être avéré entre l'exposition aux AVKs de certaines espèces et leur dynamique de population nationale au Royaume-Uni (Shore *et al.* 2005 ; Walker *et al.* 2008) et au Danemark (Christensen, Lassen & Elmeros 2012). L'usage des AVKs est dans ces pays (Danemark et Royaume-Uni) uniquement **biocide**, et des effets sur les populations non-cibles ont pu être mis en évidence, à des échelles plus locales, dans le cadre de traitements rodenticides en nature (éradication des espèces invasives sur les îles ou lutte phytopharmaceutique).

Dans le cadre de **l'éradication des espèces invasives des milieux insulaires**, des impacts significatifs des traitements sur les populations non-cibles ont été rapportés. Par exemple suite à des traitements au brodifacoum en Nouvelle-Zélande, certaines espèces d'oiseaux ont subi des déclin allant de 20 à 100 % (Empson & Miskelly 1999). Sur les petites îles, les populations non-cibles

peuvent être suivies de façon rapprochée. Par exemple, les populations de Créadion rounoir de l'île du Nord *Philesturnus carunculatus rufusater* et celles de Kiwi d'owen *Apteryx owenii* ont été suivies (e.g. équipement des animaux avec des émetteurs) afin de suivre leur survie pendant des opérations de traitements au brodifacoum sur les îles Mercury (100 à 225 ha) (Towns & Broome 2003). Ainsi, il a pu être montré qu'une diminution des quantités d'appâts distribuées par hectare par voie aérienne et le changement du système de distribution des appâts des hélicoptères ont permis une réduction des effets sur les espèces non-cibles. Par ailleurs, la petite taille des populations non-cibles a rendu possible, dans certains cas, la capture des individus et leur encagement temporaire durant les traitements (Howald *et al.* 2007). Ces mesures ont ainsi été mises en place avec succès sur des espèces vertébrées (oiseaux, reptiles, rongeurs). Cependant sur les plus grandes îles, qui sont biologiquement plus complexes, le suivi de l'impact des traitements rodenticides sur la faune non-cible reste un défi (Howald *et al.* 2007).

Dans le cadre du **contrôle des pestes agricoles**, les effets indésirables des rodenticides sur la faune non-cible doivent potentiellement être appréhendés à des échelles spatiales encore plus vastes que sur les îles. Entre 2006 et 2007 en Espagne, des traitements ont été menés sur des centaines de milliers d'hectares (270 000 ha en 2007) pour lutter contre le Campagnol des champs. Ainsi, des tonnes d'appâts ont été déversées, entraînant une mortalité massive chez les animaux non-cibles (Olea *et al.* 2009). Dans la plupart des cas, l'impact des AVKs sur les espèces non-cibles ne peut être évalué à un niveau populationnel, et cela principalement à cause des difficultés pour les mesurer à de telles échelles spatiales. Proulx & MacKenzie (2012) ont montré à une échelle locale (zones d'environ 15 km²), qu'une zone traitée plus intensivement aux rodenticides (89,7 % du secteur traversé traité) présentait des densités de Blaireau américain *Taxidea taxus* 2,2 fois plus faibles et des densités de Renard roux 6,4 fois plus faibles qu'une zone moins intensivement traitée (19,6 % du secteur traversé traité). Il est à noter que 2 molécules sont utilisées dans le cadre de ces traitements contre le Spermothophile de Richardson *Spermophilus richardsonii* : la chlorophacinone mais aussi le phosphore de zinc, qui n'est pas un AVK. Dans cette situation comme dans la situation espagnole évoquée précédemment, les auteurs préconisent la mise en place d'un programme de lutte intégrée contre ces pestes agricoles.

En France, les traitements PPP menés contre le Campagnol terrestre entraînent également l'empoisonnement de la faune non-cible (Berny *et al.* 1997), ce qui a conduit une évolution des pratiques de traitements. Depuis 2001, l'utilisation des rodenticides est devenue préventive et non plus curative. L'utilisation de la bromadiolone est ainsi interdite au-dessus d'un seuil indiciaire de densité relative correspondant à 50 % des intervalles de 10 m d'un transect occupés par des indices (tumuli) (Giraudoux *et al.* 1995 ; Figure 6). Les agriculteurs sont encouragés à traiter le plus tôt possible dans le cycle c'est-à-dire pendant les premiers stades de croissance des populations de Campagnol terrestre (Ministère de l'Agriculture et de la Pêche 2002), ce qui permet de réduire les quantités d'appâts utilisées tout en conservant une bonne efficacité de contrôle (Delattre & Giraudoux 2009). Au début des années 2000, de nombreux agriculteurs continuaient à utiliser la bromadiolone

alors que les densités de campagnol étaient élevées (lutte « haute densité »), depuis 2002 et progressivement, les agriculteurs sont passés à une lutte « basse densité ».

L'impact de la lutte « haute densité » a été montré à un niveau populationnel par Raoul *et al.* (2003). Les populations de renard ont été suivies par comptage indiciaire sur une zone de 100 km² environ dans le département du Doubs. Un déclin prononcé des populations a été observé après des traitements très intensifs en 1997 et 1998 (80 000 ha traités), et les densités de populations sont restées basses jusqu'en 2000. Si la dimension temporelle du déclin était claire, son étendue et sa dynamique spatiale n'ont pu être appréhendées. Les effets d'un passage à une lutte « basse densité » sur les dynamiques des populations non-cibles n'ont à ce jour pas été évalués. Cependant depuis 2004 la Fédération des chasseurs du Doubs (région Franche-Comté), dans le cadre de la gestion des espèces chassables, suit par comptage au phare les populations de renard sur l'ensemble du département. Or, dans ce département la bromadiolone est utilisée contre le Campagnol terrestre. Les effets de la molécule sur la faune non-cible ont abouti à un protocole de traçabilité des appâts utilisés. Ainsi, les agriculteurs déclarent les traitements effectués aux instances régionales de l'agriculture (la Direction Régionale de l'Alimentation et de l'Agriculture, DRAAF) et depuis 1991 en Franche-Comté, une base de données a été constituée qui renseigne pour chaque commune et chaque année, les quantités d'appâts utilisées. Croiser les données sur les traitements bromadiolone et les densités de renard permettraient d'appréhender à une échelle départementale, l'effet des AVKs sur la dynamique des populations non-cibles. Par ailleurs, le croisement de ces informations permettrait d'évaluer l'effet sur la faune non-cible d'un passage vers des traitements moins intensifs.

I.7. En résumé

Les rongeurs font partie des pestes les plus importantes dans le monde. La lutte chimique avec les rodenticides anticoagulants (AVKs) est souvent, et notamment en Europe, le principal moyen de lutte contre les rongeurs. Les rongeurs commensaux (rats et souris) constituent la cible principale de la lutte chimique (*e.g.* les produits à leur destination représentent 90 % des ventes en France) (cadre de traitements biocides dans la plupart des cas). Il peut cependant y avoir localement d'importants traitements contre des rongeurs non commensaux ; des pestes agricoles (*e.g.* le Campagnol terrestre) dans la plupart des cas (*c.-à-d.* en Europe cadre de traitements phytopharmaceutiques ou PPP). La persistance importante des AVKs dans les appâts et dans les organismes aboutit à une contamination généralisée des réseaux trophiques, et notamment de ceux impliquant les rongeurs et leurs prédateurs. Les rongeurs cibles et non-cibles des traitements viennent consommer les appâts et ainsi leurs prédateurs sont exposés aux AVKs et cela quel que soit leur régime alimentaire. Les effets létaux des AVKs chez les prédateurs sont avérés en nature ; des empoisonnements massifs sont notamment observés lors de l'utilisation PPP des AVKs ; et les premières preuves d'effets sublétaux ont été apportées. En absence d'alternative à ces molécules, les AVKs ont été ré-autorisés en Europe. Il est cependant recommandé, et cela dans les 2 cadres de lutte (biocide et PPP), de mettre en place des mesures de limitation du risque pour les organismes non-cibles (*e.g.* boîtes d'appâtage

sécurisées) et d'employer la lutte chimique comme un des outils d'une stratégie de lutte intégrée (c.-à-d. faisant intervenir des méthodes de lutte alternatives).

La mise en place de mesures de limitation du risque passe par une meilleure compréhension du transfert des AVKs dans les réseaux trophiques. En outre, pour mesurer l'efficacité de ces mesures, il est nécessaire de pouvoir mesurer l'exposition et l'effet des AVKs chez les prédateurs de rongeurs.

L'amélioration des connaissances sur les processus de transfert passe d'abord par une plus ample caractérisation de l'exposition des rongeurs cibles et non-cibles aux AVKs. A l'heure actuelle, les résidus d'AVKs présents dans les rongeurs ont été peu quantifiés, et cela dans les 2 contextes d'usage. Par ailleurs, la mobilité des rongeurs et donc leur probabilité d'être exposés aux AVKs, et d'être prélevé par un prédateur est fonction du sexe et de l'âge de l'individu. Il apparaît donc nécessaire de mieux documenter le lien entre le sexe et l'âge des rongeurs et leur exposition aux AVKs. De plus, les traitements aux AVKs varient de manière saisonnière et les conséquences sur la contamination des rongeurs n'ont jamais été quantifiées. La mobilité des rongeurs entraîne par ailleurs une diffusion des contaminations autour des zones de traitement (biocide ou PPP). Cependant peu de données permettent, à l'heure actuelle, de caractériser la distribution spatiale des contaminations et donc du risque d'empoisonnement secondaire des prédateurs qui en résulte.

L'usage des AVKs et le régime alimentaire des prédateurs détermineraient leur exposition aux AVKs. Afin de déterminer l'influence de ces facteurs environnementaux, l'utilisation de marqueurs non-invasifs permettrait de standardiser des suivis d'exposition, et cela potentiellement sur de grandes échelles spatiales. Le Renard roux est une espèce particulièrement exposée aux AVKs, aussi bien dans des contextes de traitements biocides que PPP, et les cadavres de cette espèce sont parmi ceux qui sont les plus collectés dans le cadre de traitements à la bromadiolone contre le Campagnol terrestre. L'utilisation des fèces de renard en tant que marqueur d'exposition non-invasif est en cours de développement. Il reste cependant à préciser les biais de cette méthode en nature, notamment les erreurs dans l'attribution des fèces à une espèce donnée et l'influence de l'âge des fèces sur la mesure d'exposition. La pertinence de la méthode reste également à vérifier en nature en confrontant les données spatialisées d'exposition mesurées dans les fèces, celles des traitements rodenticides et celles de régime alimentaire.

La mesure des effets des AVKs chez les prédateurs pourrait s'appuyer sur la recherche de sang hémorragique dans leurs fèces. Les tests au gaïac utilisés chez l'Homme (Hemoccult II®) pour détecter l'hémoglobine dans les selles, et qui reposent sur la détection de l'activité peroxydasique de l'hème, pourraient être potentiellement utilisés. Cependant, les peroxydases alimentaires (notamment du sang des rongeurs proies) peuvent rendre le test positif, et leur interférence dans la possibilité de détecter le sang hémorragique doit être préalablement testée.

Enfin, la mesure d'effet des AVKs sur la dynamique des populations et le bénéfice de la mise en place de mesures de limitations du risque ont jusqu'alors été évalués de façon très globale (échelle

nationale dans le cadre de traitements biocides) ou très locale (dans le cadre de l'éradication des rongeurs invasifs sur les îles). Dans le département du Doubs, les traitements à la bromadiolone contre le Campagnol terrestre sont suivis à une échelle régionale avec une résolution communale. En parallèle, et alors que les pratiques de traitement évoluaient pour en limiter les effets non-cibles, les populations de Renard roux ont été suivies annuellement depuis 2004 sur l'ensemble du département. La confrontation de ces données permettrait d'une part et pour la première fois de mesurer à une échelle régionale l'impact des traitements AVKs PPP sur une population de prédateurs, et d'autre part de mesurer le bénéfice de l'évolution des pratiques de traitements.

I.8. Objectifs de la thèse

Ainsi les objectifs de ce travail sont de répondre aux questions suivantes :

1. Quelle est, en nature, la distribution de la contamination aux AVKs au sein de la communauté de rongeurs ?

- 1.1. Quelle est la fréquence et le niveau d'exposition de chacune des espèces de rongeurs aux 8 AVKs homologués en Europe ?
- 1.2. Y a-t-il une influence du type d'usage sur les niveaux de contamination et sur la fréquence d'occurrence des molécules ?
- 1.3. Y a-t-il une influence des caractéristiques individuelles des rongeurs (sexe, âge) sur les niveaux de contamination et sur la fréquence d'occurrence des molécules ?
- 1.4. Quelle est la variabilité saisonnière et spatiale des contaminations des rongeurs aux AVKs ?

2. Quelle est l'applicabilité en nature, chez le Renard roux, d'une mesure non invasive d'exposition aux AVKs basée sur la recherche de résidus d'AVKs dans les fèces ?

- 2.1. Quels sont les biais de la méthode ?
 - *Quelle est l'erreur dans l'identification des fèces de renard ?*
 - *L'utilisation d'un indice de fraîcheur permettrait-il d'estimer le biais lié à la dégradation des AVKs après leur excrétion ?*
- 2.2. Est-ce que cette méthode est applicable dans un contexte d'utilisation uniquement biocide des AVKs ?
Si oui, existe-t-il un lien entre l'usage des rodenticides (biocide seul ou PPP/biocide), le régime alimentaire des renards et la mesure d'exposition ?

La mesure d'exposition a-t-elle un lien avec la distribution spatiale et l'intensité des traitements rodenticides PPP ainsi qu'avec l'importance de la consommation de campagnols terrestres et de campagnols des champs ?

3. Quels sont les effets des AVKs sur les populations non-cibles ?

3.A. Est-ce que les tests Hemocult II®, utilisés chez l'Homme pour détecter le sang dans les selles, sont utilisables pour la détection, dans les fèces de renard, d'hémorragies causées par les AVKs ?

3.B. Est-ce que les traitements rodenticides ont un impact sur la dynamique des populations de renard ?

- 3.B.1. Est-ce que l'impact sur les populations est dépendant des quantités de bromadiolone utilisées dans la lutte PPP contre le Campagnol terrestre, et dans ce cas, est-ce que les mesures mises en place pour réduire les quantités de bromadiolone utilisées sont suffisantes pour réduire cet impact ?
- 3.B.2. Y a-t-il un impact prolongé des traitements sur les populations de renard et comment s'effectue leur rétablissement dans le temps et l'espace ?

Le schéma ci-dessous (Figure 10) résume la structuration du mémoire et les questions propres à chacune de ses parties :

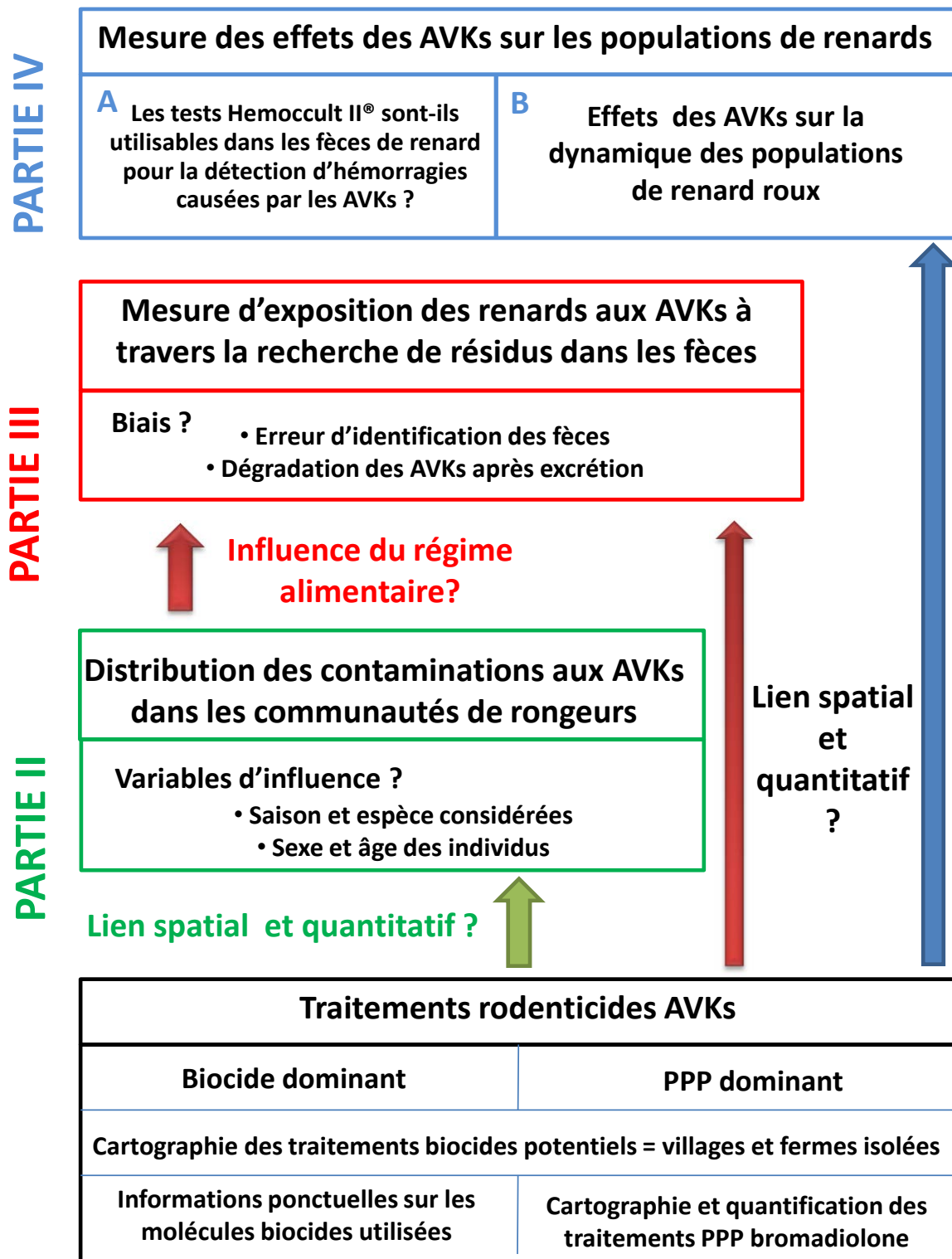


Figure 10. Schéma récapitulatif des objectifs et de l'organisation du mémoire.

II. Distribution des contaminations aux AVKs dans les communautés de rongeurs

II.1. Introduction

L'introduction de ce chapitre synthétise des éléments présentés dans l'introduction générale du manuscrit.

Les résidus d'AVKs dans les rongeurs n'ont été que peu quantifiés. Dans un contexte d'utilisation biocide (ciblant essentiellement rats et souris), les résidus d'AVKs dans les rongeurs n'ont été mesurés, à la fois dans les rongeurs cibles et non-cibles, que dans les travaux de Tosh *et al.* (2012) et dans le rapport européen d'évaluation du flocoumafène (Commission Directive 98/8/EC 2009c). L'étude de Tosh *et al.* (2012) ne portait que sur un nombre restreint d'individus ($n=67$) et seulement sur 2 espèces : la Souris domestique *Mus musculus domesticus* et le Mulot sylvestre *Apodemus sylvaticus*. Dans le rapport d'évaluation du flocoumafène, les données sur les résidus ont été indiquées sans distinction des espèces non-cibles et pour une molécule, le flocoumafène, dont les quantités utilisées en Europe sont faibles par rapport aux autres substances actives (Commission Directive 98/8/EC 2009c). Dans un contexte d'utilisation phytopharmaceutique (PPP) des AVKs, les résidus d'AVKs ont été recherchés dans le corps de rongeurs cibles et non-cibles aux mœurs essentiellement souterraines et au régime principalement herbivore (Campagnol terrestre *Arvicola terrestris*, Campagnol des champs *Microtus arvalis*, Campagnol de Brandt *Microtus brandtii*, géomyidés et spermophiles) (*cf* § I.6.1.aa). Or, dans un contexte biocide, des espèces de surface au régime alimentaire plus généraliste, comme le Mulot sylvestre ou le Campagnol roussâtre *Myodes glareolus* sont attirées par les appâts (Brakes & Smith 2005) mais leur exposition dans un contexte de lutte PPP reste à ce jour pas ou peu renseignée. L'amélioration des connaissances sur le transfert des AVKs dans les réseaux alimentaires passe donc en premier lieu par une meilleure quantification des résidus de ces molécules dans les espèces de rongeurs cibles et non-cibles, et dans les 2 contextes d'usage des rodenticides.

La capacité de déplacement journalier des espèces et des catégories d'individus pourrait influencer leur exposition aux AVKs. Par exemple, le Mulot sylvestre serait particulièrement exposé aux AVKs en raison de sa plus grande mobilité (Brakes & Smith 2005). La mobilité des rongeurs, si elle favorise l'exposition aux AVKs, augmenterait également leur chance d'être prélevés par les prédateurs (Norrdahl & Korpimäki 1998). Or, chez les rongeurs, la mobilité peut être fonction du sexe (les mâles de mulots sylvestres par exemple se déplacent sur de plus grandes distances que les femelles (Quéré & Le Louarn 2011)). Tosh *et al.* (2012) n'ont pas trouvé d'influence du sexe sur la contamination des mulots et souris analysés mais le nombre réduit d'individus inclus dans les analyses (55 mulots et 12 souris) limitait leur puissance statistique. Dans le cadre d'un usage PPP des AVKs, les travaux de Sage *et al.* (2008) laissent supposer que la moins grande mobilité des femelles de campagnols terrestres et donc leur cantonnement sur les parcelles traitées à la bromadiolone augmenterait leur exposition aux appâts par rapport aux mâles. L'influence du sexe sur l'exposition aux AVKs reste donc à déterminer dans les 2 contextes d'usage des rodenticides. L'âge peut également influencer la mobilité des rongeurs et donc leur exposition potentielle aux AVKs (par

exemple chez le Campagnol roussâtre ; les individus mâtures sont moins mobiles que les sub-adultes ; Escutenaire *et al.* 2002). Par l'intermédiaire de l'expérience et de la masse, il peut également influencer la vulnérabilité des individus à la prédation (Pettorelli *et al.* 2011 ; Hindmarch & Elliott 2012). Si dans un contexte de traitement PPP, Sage *et al.* (2008) n'ont pas trouvé d'influence de l'âge sur les concentrations en bromadiolone de campagnols terrestres, celle-ci n'a jamais été évaluée sur la contamination de rongeurs dans un contexte de traitements biocides.

Enfin, aucune étude n'a jusqu'alors porté sur les variations saisonnières des contaminations au sein d'un même site. Or l'intensité des traitements, qu'ils soient biocides ou PPP, varie selon les saisons. Les traitements sont plus intensifs à l'automne, alors que les densités de rongeurs sont à leur maximum après la saison de reproduction (Harris *et al.* 1995 dans un contexte biocide et base de données Fredon/DRAAF Franche-Comté sur les traitements PPP contre le Campagnol terrestre). Par ailleurs, dans les 2 contextes d'usage des rodenticides, il existe peu de données qui permettent de caractériser l'étendue spatiale des contaminations par rapport aux zones de traitement. Tosh *et al.* (2012) ont montré que des mulots sylvestres exposés sont retrouvés à 110 m des zones traitées les plus proches. Cependant le nombre restreint d'individus positifs (n=12) n'a pas permis de mettre en évidence une structure spatiale des contaminations par rapport aux traitements. Dans un contexte de lutte PPP, aucune donnée n'existe sur l'étendue spatiale des contaminations autour des traitements car jusqu'à maintenant, le suivi d'intoxications des rongeurs s'est limité aux parcelles traitées. Caractériser les variations saisonnières et spatiales d'exposition des rongeurs permettrait de mieux définir le risque d'intoxication secondaire des prédateurs dont l'occupation de l'espace et le régime peuvent varier de manière saisonnière.

A travers ce chapitre nous cherchons donc à répondre aux questions suivantes :

- 3.1. Quelle est la fréquence et le niveau d'exposition de chacune des espèces de rongeurs aux 8 AVKs homologués en Europe ?
- 3.2. Y a-t-il une influence du type d'usage sur les niveaux de contamination et sur la fréquence d'occurrence des molécules ?
- 3.3. Y a-t-il une influence des caractéristiques individuelles des rongeurs (sexe, âge) sur les niveaux de contamination et sur la fréquence d'occurrence des molécules ?
- 3.4. Quelle est la variabilité saisonnière et spatiale des contaminations des rongeurs aux AVKs ?

II.2. Matériel et méthodes

II.2.1. Secteurs, périodes d'étude et usage des rodenticides associés

L'étude a été menée en France dans les départements du Doubs (25) et de la Haute-Saône (70) (Figure 11) dans des secteurs où l'agriculture est principalement tournée vers l'élevage bovin. Sur les plateaux du Doubs (secteur de l'AOC Comté), la production agricole est essentiellement herbagère. Cette monoculture d'herbe entraîne des pullulations chroniques de la forme fouisseuse du Campagnol terrestre *Arvicola terrestris* scherman (Giraudoux *et al.* 1997). Dans les départements de la Haute-Saône et du Doubs, les AVKs sont uniquement utilisés à proximité des habitations et des bâtiments (en usage que l'on qualifiera de biocide par la suite, même si les produits utilisés par les jardiniers amateurs pour protéger les plantes rentrent dans un cadre législatif phytopharmaceutique PPP). Sur les plateaux du Doubs, la bromadiolone est également utilisée en plein champ en usage PPP dans le cadre de la lutte contre le Campagnol terrestre. La lutte chimique contre ce rongeur est encadrée par des arrêtés préfectoraux ; l'Arrêté n° 2007-2802-01100 dans le Doubs (Préfet du Doubs 2007). Les traitements peuvent être faits du printemps à l'automne. Les appâts sont préparés de façon industrielle (appâts SUPER CAID produits par la société Liphatech) à une concentration de 50 mg/kg. Ils sont enfouis dans des galeries artificielles à l'aide d'une charrue sous-soleuse ou sont déposés directement dans les terriers par le biais d'une canne ou fusil à blé. La réglementation limite les quantités utilisées à un maximum de 20 kg/ha.

L'échantillonnage a eu lieu au printemps (avril-mai) et à l'automne (octobre-novembre) 2010. Trois communes où les AVKs n'étaient pas utilisés en plein champ (nommées communes « biocides » par la suite) ont été échantillonnées aux 2 saisons : Aboncourt-Gésincourt (70), Rillans et Gouhelans (25) (Figure 11). Rillans et Gouhelans, respectivement de 3,5 et 6,4 km² et spatialement proches, ont été sélectionnées afin d'échantillonner une surface comparable à celle de l'autre commune « biocide » ; Aboncourt-Gésincourt (10,7 km²). Trois communes où la bromadiolone a été utilisée en plein champs (nommées communes « PPP » par la suite) ont été échantillonnées : Echevannes (4,9 km²) (échantillonnée au printemps), Boujailles (27 km²) (automne) et Les Combes (18,3 km²) (printemps et automne) (Figure 11).

Il n'existe pas de dispositif de traçabilité des appâts à usage biocide. Les propriétaires des hangars agricoles isolés des agglomérations ont été systématiquement contactés pour savoir s'ils utilisaient des AVKs dans ou à proximité de leurs hangars. Cependant, nous n'avons pu collecter que des informations anecdotiques sur les usages au sein des villages. Les agglomérations ont donc été considérées globalement comme des zones de traitement biocide potentiel. Comme il existe un dispositif (géré par la FREDON) de traçabilité des traitements AVKs PPP menés contre le Campagnol terrestre, les traitements PPP ont été intégralement cartographiés et quantifiés. Pour chaque saison, les renseignements concernant les dates de traitement, l'emplacement des parcelles traitées, les surfaces traitées et les quantités d'appâts distribuées ont été collectés auprès des agriculteurs puis validés *a posteriori* à l'aide du fichier de déclaration des traitements (gestion FREDON/DRAAF

Franche-Comté). Les traitements ont été cartographiés sur l'ensemble des communes sur lesquelles les piégeages ont été effectués, ainsi que sur les communes adjacentes aux communes de collecte.

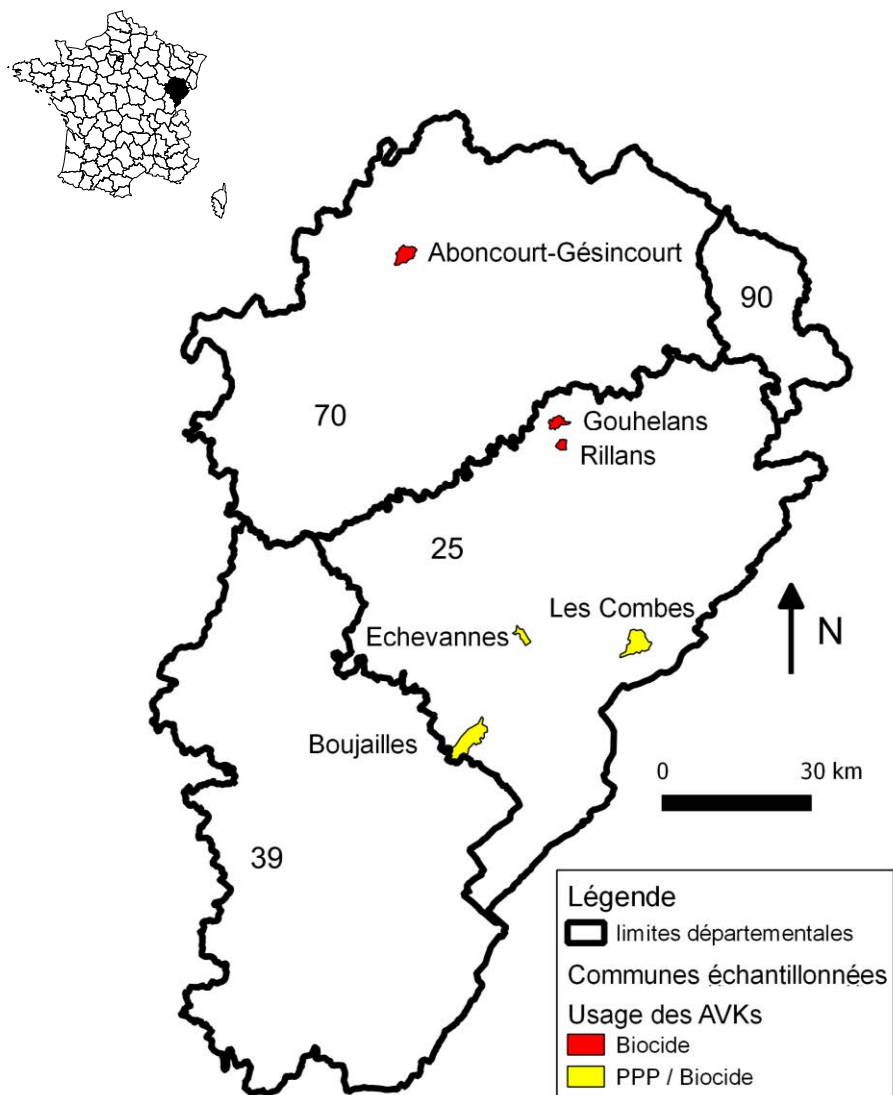


Figure 11. Localisation en France et au sein de la Franche-Comté des départements et communes échantillonnées et usage des AVKs sur ces communes.

II.2 2. Suivi de l'exposition des rongeurs : de la collecte à l'analyse des données

II.2.2.a. Échantillonnage des rongeurs

Afin de caractériser la distribution spatiale de la contamination des rongeurs aux AVKs, des piégeages ont été effectués à des distances croissantes des points de traitements (agglomérations, fermes isolées et le cas échéant parcelles traitées à la bromadiolone). Le piégeage des rongeurs a été fait dans un rayon de 1 km environ autour du village et/ou des parcelles traitées. La plupart des piégeages étaient faits avec des lignes de tapettes à souris posées de façon standardisée (Tableau 6) : sur une ligne, 10 tapettes appâtées (mélange de farine, d'eau et de beurre de cacahuète) espacées de 3m étaient posées pendant au moins 3 nuits consécutives. Les tapettes à souris permettaient de piéger les petites espèces de rongeurs (Mulot sylvestre *Apodemus sylvaticus*, Mulot à collier *Apodemus flavicollis*, Souris domestique *Mus musculus domesticus*, Campagnol roussâtre *Myodes glareolus*, Campagnol des champs *Microtus arvalis*, Campagnol agreste *Microtus agrestis* et Rat des moissons *Micromys minutus*) mais pas les plus grosses espèces ou les espèces plus souterraines (rats *Rattus sp.*, Campagnol terrestre *Arvicola terrestris* et Campagnol souterrain *Microtus subterraneus*). En se basant sur les informations fournies par les habitants et les agriculteurs, le piégeage des rongeurs commensaux était complété par la pose non standard de tapettes à souris ou à rats à proximité ou dans les bâtiments. Ce piégeage a été essentiellement fait sur les communes biocides puisque la présence de rats et souris nous a rarement été notifiée sur les communes PPP. Les rongeurs de prairie (campagnols terrestre, des champs et souterrain) étaient capturés avec des pièges Topcat (Biocontrol, Suisse); piégeage qui a principalement été utilisé dans les communes PPP (Tableau 6). Le plan d'échantillonnage sur la commune d'Echevannes est donné comme exemple en Figure 12. Le Tableau 6 récapitule le nombre de nuits pièges par type de piège et par commune. Ponctuellement, des rongeurs trouvés morts à côté de traitements rodenticides ont pu être également collectés.

Tableau 6. Nombre de "nuits piège" (1 nuit piège = 1 piège laissé une nuit sur site) par saison, par commune et par type de piégeage.

Saison	Usage AVKs	Commune	Tapette à souris		Tapette à rat	Topcat
			pose non standardisée	lignes standardisées		
Printemps	Biocide	Aboncourt-Gésincourt	276	3438	123	61
		Gouhelans	218	1203	46	0
		Rillans	383	1525	99	0
	PPP	Echevannes	0	1040	0	89
		Les Combes	0	1774	0	170
Automne	Biocide	Aboncourt-Gésincourt	35	1809	0	0
		Gouhelans	0	821	9	0
		Rillans	108	774	13	0
	PPP	Boujailles	20	1363	0	81
		Les Combes	0	905	0	98

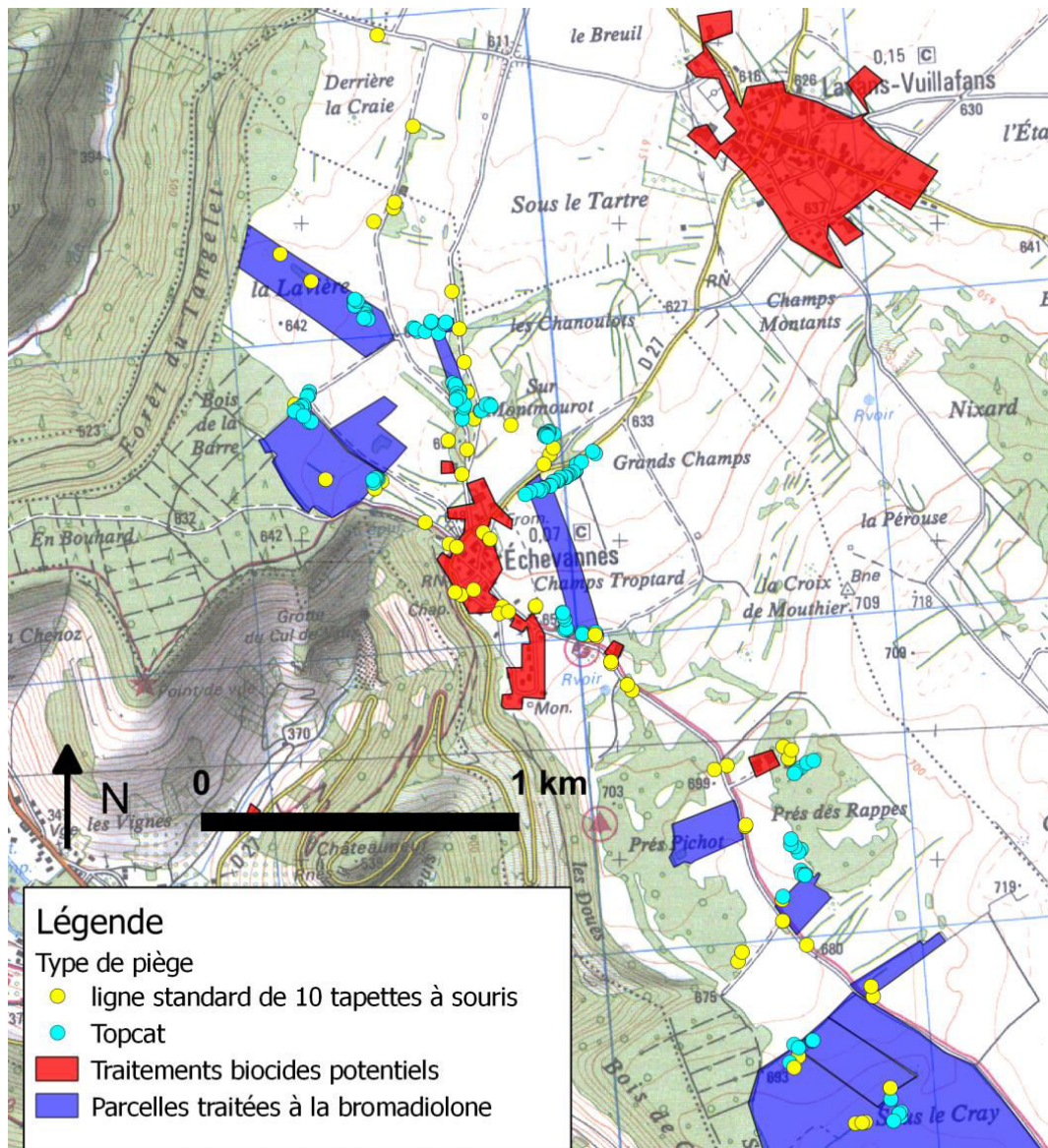


Figure 12. Plan d'échantillonnage des rongeurs sur une commune PPP : la commune d'Echevannes.

La détermination taxonomique des individus capturés était poussée jusqu'à l'espèce sauf lorsque les critères morphologiques déterminants étaient absents. C'était le cas pour les individus endommagés, les musaraignes du genre *Sorex* et les individus du genre *Apodemus* qui ont tous été regroupés (taxon Mulot *sp*). En effet la distinction entre les jeunes mulots à collier *Apodemus flavicollis* et les mulots sylvestres *Apodemus sylvaticus* ne peut se faire que par une analyse génétique (Michaux *et al.* 2001). L'âge relatif des rongeurs capturés était estimé, au sein de chaque taxon, à partir de la masse sèche des cristallins (Quéré & Vincent 1989). Les individus ont été pesés et leur sexe a été répertorié.

II.2.2.b. Préparation des tissus pour analyse et quantification des AVKs dans le corps des rongeurs

Tous les AVKs autorisés en Europe pour un usage biocide ou PPP ont été recherchés dans le corps des rongeurs soit 8 molécules : le brodifacoum, la bromadiolone, la chlorophacinone, le coumafène, le coumatétralyl, le difénacoum, la diféthialone et le flocoumafène. La méthode a été adaptée de l'analyse multi-résidus des AVKs dans le plasma (Fourel *et al.* 2010).

II.2.2.ba. Sélection et préparation des échantillons

Pour chaque saison et chaque commune, environ 100 individus ont été sélectionnés pour dosage exceptées les communes de Rillans et Gouhelans pour lesquelles 50 individus ont été sélectionnés par saison. Lors de la sélection, les espèces cibles ont été favorisées (Rat surmulot, Souris domestique et Campagnol terrestre), ainsi que les espèces non-cibles les plus capturées (Mulot *sp.*, Campagnol roussâtre et Campagnol des champs). Au sein de chaque commune et pour chaque espèce, la sélection des individus a été faite de manière à équilibrer les effectifs de mâles et de femelles, à retenir des individus représentatifs de la structure d'âge de l'ensemble des individus capturés, cela en optimisant la répartition spatiale des individus sélectionnés par rapport aux traitements AVKs potentiels ou avérés.

Le dosage des AVKs dans le corps entier broyé en LC-fluorescence et UV s'est révélé inadapté, notamment en raison de l'interférence des substances du tube digestif dans la détection des AVKs recherchés. Il a ainsi été décidé (1) de reprendre les dosages de ces individus avec un appareil LC-MS/MS plus sensible et spécifique et (2) de séparer et peser le foie, le tube digestif et le reste du corps (appelé carcasse par la suite) des individus dont les tissus n'avaient pas encore été préparés afin de quantifier séparément les AVKs dans ces différentes parties du corps.

Les individus dont le corps a été entièrement broyé étaient tous des individus capturés au printemps ; tous ceux sélectionnés à Aboncourt-Gésincourt, Rillans et Gouhelans et 80 individus sélectionnés aux Combes. Après passage dans l'azote liquide (Air liquide, Audincourt, France) les corps entiers ont été moulinés avec de la carboglace (Cryo Express, Bobigny, France) dans un mixer Blixer 3 (Robocoupe, Vincenne, France) jusqu'à obtention d'un broyat homogène des tissus (appelé moulinat par la suite) (méthode adaptée de Atterby, Kerins & MacNicol 2005 et de Sage *et al.* 2008).

Pour les individus dont le foie, le tube digestif et la carcasse ont été séparés, le dosage a d'abord porté sur les foies. Les AVKs s'accumulent très rapidement et majoritairement dans le foie (Sage *et al.* 2008 ; Vandenbroucke *et al.* 2008) ; le dosage dans cet organe permettait donc d'identifier sensiblement les individus exposés. Les individus ne présentant pas d'AVKs dans le foie étaient considérés comme négatifs. Pour les 3 molécules les plus retrouvées dans le foie (bromadiolone, chlorophacinone et difénacoum), le tube digestif et la carcasse d'une sélection d'individus positifs ont été analysés séparément. Des droites de corrélations ont ensuite été établies entre les quantités hépatiques et les quantités totales afin de calculer les quantités totales de chacune de ces 3 molécules dans le corps des rongeurs dont seul le foie avait été dosé (voir § ci-dessous

II.2.2.bc). Pour les AVKs les moins retrouvés dans le foie, lorsqu'un individu présentait des résidus hépatiques, tube digestif et carcasse étaient systématiquement analysés. Les carcasses ont été moulinées selon la même procédure que les corps entiers. Les tubes digestifs ont été homogénéisés à l'aide d'un homogénéiseur de tissu Ultra Turrax (T25 Basic S.25.N - 18 G, IKA-WERK, Staufen, Germany).

Lors des dissections et moulinaages les ustensiles étaient nettoyés à l'eau chaude et à l'éthanol entre chaque échantillon afin d'éviter les contaminations inter-échantillons. Après préparation (moulinage ou dissection), les tissus ont tous été stockés à l'obscurité à -20°C jusqu'à l'extraction.

II.2.2.bb. Extraction et dosage des AVKS

Tous les produits chimiques, réactifs et solvants étaient de qualité analytique. L'acétone et l'acétonitrile (CHROMASOLV pour HPLC) ont été fournis par Sodipro (Echirolles, France) et l'acétate d'ammonium (MS grade) par Fluka (Steinheim am Albuck, Allemagne). Le méthanol, utilisé pour les solutions standards, a été fourni par Merck (Darmstadt, Germany). L'eau ultra-pure utilisée pour les solutions standards était produite par un système de purification d'eau Mili-Q Plus (Milipore). Les poudres d'AVKs utilisées pour la préparation des solutions standards ont été fournies par Sigma-Aldrich (Saint-Louis, MO) pour le coumafène, le coumatétralyl, la bromadiolone, le difénacoum, le flocoumafène, le brodifacoum et le dicoumarol (utilisé comme étalon interne) et par Liphatech (Pont du Casse, France) pour la chlorophacinone et la diféthialone.

Pour tous les types de matrices (moulinat du corps entier, foies, tubes digestifs broyés ou carcasse broyée), un aliquote de $1,05 \pm 0,05$ g de masse fraîche (si présente en quantité suffisante) a été pesé et mis dans un tube en polypropylène de 50 mL pour extraction des AVKs. L'extraction était réalisée juste avant le dosage. Pour les foies et les moulinaats, dans chaque tube-échantillon, 10 µl d'une solution à 1 mg/L de dicoumarol (étalon interne) étaient ajoutés ainsi que 10 ml d'acétone. Les échantillons étaient ensuite homogénéisés à l'ultra-turrax pendant environ 30 s. La tige de l'ultra-turrax était démontée et rincée à l'eau chaude entre chaque spécimen, puis était rincée dans 2 tubes contenant de l'acétone. Les échantillons étaient ensuite centrifugés à 3000 tr/min pendant 5 min. L'intégralité du surnageant était transvasé dans des tubes à essais et l'acétone était évaporé à 40°C sous flux d'azote. L'extrait sec obtenu était repris dans 100 µl d'acétonitrile et les AVKs étaient solubilisés dans l'acétonitrile par agitation pendant 10 s sur un Vortex (MS2 Minishaker IKA-WERK, Staufen, Germany), passage aux ultrasons pendant 5 min et enfin nouvelle agitation au Vortex de 10 s. Les éléments lipidiques étaient dissociés en plaçant les tubes au congélateur durant 10 min. Le surnageant était ensuite transvasé dans un vial pour analyse.

La procédure d'extraction des AVKS des tubes digestifs et des carcasses était similaire sauf que 100 µL d'étalon interne à 1 mg/L étaient ajoutés dans les échantillons au départ, que l'extrait sec après évaporation sous flux d'azote était repris dans 200 µL d'acétonitrile et que le surnageant obtenu après la congélation était filtré au moyen d'une seringue équipée d'un filtre de 0,2 µm (Phenomenex) lors de la mise en vial.

L'extrait obtenu était analysé par LC-MS/MS avec une chaîne HPLC 1200 et un spectromètre de masse 6410 Triple Quad (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, Etats-Unis) équipé d'une interface d'ionisation par électronébulisation (*Electro Spray Ionisation* ESI) et contrôlé par le logiciel Mass Hunter (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, Etats-Unis). La séparation chromatographique a été réalisée en utilisant une colonne Kinetex C18 (2.1*100mm, 2.6µm) et une pré-colonne Security Guard Ultra Cartridge UHPLC 18, 2.1mmID Column, toutes 2 fournies par Phenomenex. La phase mobile était constituée de 2 solvants : A acétate d'ammonium à 10 mM et B acétonitrile. Le gradient d'élution de la phase mobile était le suivant : 70% A : 30% B (proportions en volume) à 0 min, 40% de B à 0,1 min ; 90% de B à 10 min et cela jusqu'à 11 min et enfin 30% de B à 12 min. La durée totale d'analyse était de 22 min. Les colonnes et pré-colonnes étaient à température ambiante. Le débit était de 0,25 ml/min. Le volume d'injection était de 2 µL pour les foies et les moulinats et de 1 µL pour les tubes digestifs et les carcasses.

La détection était faite par MS/MS avec l'ESI en mode négatif. La pression du nébuliseur était fixée à 40 psi, sa température sèche à 350°C et le débit de gaz sec à 8l/min. Le voltage du capillaire était fixé à 4000 V.

Les concentrations des résidus d'AVKs ont été quantifiées via les courbes de calibration réalisées à partir de matrices blanches supplémentées avec les solutions standards. Les concentrations les plus basses des courbes de calibrations correspondaient aux limites de quantification (LOQ) ; elles ont été calculées de façon à avoir une réponse pour la LOQ égale au moins à 5 fois la réponse des blancs, avec une justesse comprise entre 80-120% et une répétabilité dont le coefficient de variation était inférieur à 20% (US FDA 2001). La limite de détection (LOD) était égale à 3 fois la valeur du bruit de fond (US FDA 2001). Les LOQ et les LOD ont été récapitulées pour chaque matrice et chaque molécule dans le Tableau 7. Les LOQ et les LOD étaient plus faibles dans le foie que dans les autres matrices pour toutes les molécules, exceptée la chlorophacinone. Pour cette molécule, la LOQ et la LOD dans le foie étaient similaires à celles dans le moulinat et le tube digestif. Les LOQ et LOD dans les moulinats, les tubes digestifs et les carcasses étaient toujours les mêmes (respectivement 2 et 1,2 µg/kg) sauf pour la diféthialone et la chlorophacinone dont la LOQ et le LOD étaient plus élevées dans les carcasses (LOQ de 5 et LOD de 3 µg/kg). Dans les foies et pour la bromadiolone, 2 courbes de calibration ont été établies ; l'une établie avec des points de calibration non dilués avait une concentration maximale de 750 µg/kg et l'autre établie avec des points de calibration dilués au 100^e avait une concentration maximale de 50000 µg/kg. Pour la bromadiolone, les concentrations les plus hautes des courbes de calibration étaient de 3000 µg/kg dans les moulinats et de 750 µg/kg dans la carcasse et le tube digestif. Pour tous les autres AVKs, les concentrations les plus hautes des courbes de calibration étaient de 250 µg/kg dans les moulinats et de 400 µg/kg dans les autres matrices. Tous les 8 échantillons, 1 injection d'une solution standard contenant les 8 AVKs recherchés et le dicoumarol était faite pour contrôler le maintien des conditions de détection (notamment celui des temps de rétention). Cette injection était suivie de 2 injections d'acétonitrile pour contrôler l'absence de contamination résiduelle dans la colonne et la pré-colonne.

Pour chaque matrice, toutes les concentrations pour lesquelles la concentration calculée était inférieure à la LOD ont été considérées comme nulles et les concentrations comprises entre la LOD et la LOQ ont été remplacées par une valeur égale à la moitié de la LOQ (le Tableau 7 récapitule les LOQ et les LOD pour les différents échantillons). Les concentrations des échantillons de moins de 1g (notamment les foies des petits rongeurs) ont été recalculées en utilisant la masse fraîche réellement pesée.

Tableau 7. Limites de quantification (LOQ) et de detection (LOD) en µg/kg de matrice pour chaque type de matrice et pour chaque AVK recherché.

	Moulinat		Foie		Tube digestif		Carcasse	
	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD
Bromadiolone	2	1,2	0,5	0,3	2	1,2	2	1,2
Brodifacoum								
Coumafène								
Coumatétralyl								
Difénacoum								
Flocoumafène								
Diféthialone								
Chlorophacinone			2	1,2			5	3

II.2.2.bc. Calcul des concentrations dans le corps total

Les concentrations dans le corps des individus broyés entièrement (moulinats) correspondaient aux concentrations dosées. Pour tous les autres individus (individus dont le foie, le tube digestif et la carcasse ont été séparés), les concentrations dans le corps ont été calculées. Les concentrations de chaque AVK (µg/kg) dans le corps des individus dont le foie, le tube digestif et la carcasse ont été dosés séparément, ont été calculées en divisant la quantité totale de chaque AVK dans le corps du rongeur (somme des quantités de chaque AVK dans chaque partie du corps dosée) (µg) par la masse corporelle des individus (kg). Les données de ces individus ont été utilisées afin d'établir des droites de corrélation entre le log des quantités totales et le log des quantités hépatiques non nulles pour chacun de 3 AVKs ; bromadiolone, difénacoum et chlorophacinone. Les caractéristiques de ces droites de corrélation sont résumées dans le Tableau 8. Les 3 modèles linéaires avaient des R^2 supérieurs ou égaux à 96%, ils ont été utilisés pour calculer les quantités de chacun de ces 3 AVKs dans le corps des rongeurs dont seul le foie avait été dosé (et pas le tube digestif ni la carcasse). Les concentrations totales de chacun des AVKs dans ces rongeurs ont été calculées en divisant les quantités totales (µg) de chacun des AVKs par la masse des rongeurs (kg).

Le foie est l'organe d'accumulation des AVKs et la limite de détection y est égale ou inférieure à celle des autres matrices (Tableau 7). Par conséquent, le dosage dans cet organe seul peut aboutir à

la détection de concentrations d'AVKs qui seraient non détectées dans les moulinats. Afin de comparer les concentrations en AVKs entre tous les individus, pour chaque AVK, 2 corrections ont été faites sur les concentrations dans le corps entier calculées:

1/ si les concentrations calculées étaient inférieures à la LOD des moulinats, elles ont été considérées comme nulles,

2/ si les concentrations dans le corps calculées étaient inférieures à la LOQ des moulinats, elles ont été remplacées par une valeur égale à la moitié de cette LOQ.

Tableau 8. Equation, R^2 et nombre de points impliqués (N) dans les droites de corrélation reliant le log des (quantités totales +1) (y) d'AVK au log des (quantités hépatiques +1) (x) pour chacun des 3 AVKs ; bromadiolone, chlorophacinone et difénacoum.

AVK	Equation	R^2	N	Remarque
Bromadiolone	$y = 0,19 + 1,03 x$	0,99	66	-
Chlorophacinone	$y = -0,13 + 1,28 x$	0,96	14	-
Difénacoum	$y = -0,18 + 1,27 x$	0,99	8	Exclusion d'1 <i>outlier</i> (1 rat mort)

II.2.2.c. Analyses statistiques

II.2.2.ca. Logique de construction des modèles.

Deux variables réponses ont été utilisées pour caractériser la contamination des rongeurs aux AVKs : 1/ la présence/absence des AVKs dans les rongeurs et 2/ les concentrations non nulles d'AVKs. L'influence des variables explicatives suivantes sur la contamination des rongeurs a été recherchée :

- taxon de rongeur considéré,
- sexe et âge des individus,
- saison d'échantillonnage,
- usage principal des AVKs dans la commune sur laquelle le rongeur a été capturé (PPP ou biocide) (variable *usage*) (cf § II.2.1.),
- distance de la capture au plus proche traitement (parcelle traitée à la bromadiolone ou traitement biocide avéré ou potentiel), en mètres (variable *dist*),
- surface traitée (m²) calculée dans des fenêtres d'analyse circulaires centrées sur chaque capture de 50, 100, 200, 300, 400 et 500 m de rayon (variables *surf50*, *surf100*, *surf200*, *surf300*, *surf400*, *surf500*).

Pour chacune des variables réponses, des modèles regroupant tous les rongeurs ont été construits. Par ailleurs, les spécificités biologiques de chaque espèce étant susceptibles de moduler la relation unissant 2 variables, l'influence éventuelle des variables explicatives a été recherchée pour

chacun des taxons séparément. Ce choix s'explique par notre volonté de tester des modèles sans interactions, afin de ne pas complexifier les interprétations.

II.2.2.cb. Caractérisation de la distribution des contaminations aux AVKs au sein de chaque taxon

L'influence de l'âge relatif (évalué via la masse des cristallins) sur la contamination en AVKs a été examinée de façon préalable. Les cristallins n'ont pas tous pu être prélevés avant la congélation des individus capturés. Or la congélation des cristallins induit un changement de leur masse ; chez le Campagnol terrestre les cristallins congelés étaient en moyenne 3,3% (95% CI: 2.4–4.1%) plus lourds que les cristallins non congelés des mêmes animaux (Burllet, Deplazes & Hegglin 2010). Pour chaque taxon, deux sous-échantillons ont été constitués suivant que les cristallins avaient été congelés ou non. Pour chacun des sous-échantillons, le modèle expliquant l'occurrence d'AVKs dans les rongeurs par la masse des cristallins a été comparé au modèle nul. Ces modèles ont été comparés comme décrit par Burnham & Anderson (2002) : quand la différence entre l'AIC des modèles était inférieure à 2, le principe de parcimonie était appliqué et le modèle avec le moins de variables était retenu. De la même manière, l'influence de l'âge sur les concentrations non nulles d'AVKs dans les rongeurs a été recherchée en constituant des sous-échantillons distincts suivant que les cristallins avaient été congelés ou non. La variable réponse a été log-transformée pour satisfaire au critère de normalité des résidus. Dans tous les cas, l'inclusion de la masse des cristallins dans le modèle n'améliorait pas le modèle nul, et n'a donc plus été incluse dans les modèles décrits ci-après.

Pour chacun des taxons, des modèles linéaires généralisés (GLM) binomiaux et, afin de tenir compte de la possible non linéarité de la réponse sur le prédicteur linéaire incluant les variables explicatives, des modèles additifs généralisés (GAM) binomiaux, visant à expliquer la présence ou l'absence d'AVKs dans les rongeurs ont été construits. Les modèles incluaient les facteurs : *Sexe* du rongeur, *Usage* des AVKs (PPP ou biocide) et *Saison* (printemps/automne). Les modèles incluaient également les variables numériques de caractérisation des traitements : *surf50*, *surf100*, *surf200*, *surf300*, *surf400*, *surf500* et *dist*. Une sélection ascendante des variables a été faite par AIC. Lors de la comparaison des modèles monovariés, un GAM sélectionné par AIC n'était conservé que si la relation modélisée n'était pas biologiquement incohérente (comme le serait une relation sinusoïdale, par exemple). La présence de variables colinéaires pose problème dans les GLM et les GAM (Zuur *et al.* 2009) et les variables numériques de caractérisation des traitements étaient corrélées 2 à 2 et parfois fortement (test de corrélation de Pearson; $p < 0,001$ pour tous les couples de variable et $0,52 < |r| < 0,97$). Lorsque l'une d'entre elles était sélectionnée par AIC, les autres étaient exclues du processus de sélection. Pour le Campagnol terrestre, la distance aux traitements (variable *dist*) n'a pas été utilisée dans les modèles car tous les individus exposés ont été piégés sur les parcelles traitées.

Pour chacun des taxons, des modèles linéaires et des GAM ont été construits afin d'expliquer les concentrations non nulles d'AVKs (somme des concentrations de tous les AVKs) mesurées dans les rongeurs. Les variables explicatives et le processus de sélection décrits précédemment pour les GLM binomiaux ont été utilisés. La variable réponse a été log-transformée pour satisfaire au critère de normalité des résidus. Les souris capturées sur les communes PPP ont toutes été capturées dans un local de stockage des appâts à la bromadiolone PPP et elles présentaient toutes de très fortes concentrations de cet anticoagulant. Ces souris étant représentatives d'une situation jugée particulière, elles ont été exclues des modèles permettant de caractériser la distribution des AVKs entre les souris (mais elles ont été incluses dans le modèle regroupant tous les taxons décrits ci-après). Seules les souris des communes biocides ont donc été incluses dans les modèles qui ont été sélectionnés et construits selon la même procédure que pour les autres taxons. Très peu de rats ont été capturés ($n=13$) et des tests paramétriques ont été menés (Siegel & Castellan 1988), lorsque les effectifs le permettaient, pour tester l'influence de l'âge, de la saison, du sexe et des variables de caractérisation des traitements sur la contamination des rats aux AVKs.

II.2.2.cc. Caractérisation de la distribution des AVKs dans la communauté de rongeurs

Afin de caractériser la distribution des contaminations aux AVKs de l'ensemble des communautés de rongeurs, des GLM et des GAM regroupant tous les taxons ont été construits. La sélection des modèles plurispécifiques a été faite suivant le même schéma que les modèles mono-spécifiques.

Les modèles explicatifs de l'occurrence d'AVKs dans les rongeurs incluaient un effet mixte afin de prendre en compte la non-indépendance des rongeurs capturés au sein d'une même commune et sur une même ligne de capture / sur un même piège. Les modèles incluaient par ailleurs les variables de caractérisation des traitements (*Usage*, *surf50*, *surf100*, *surf200*, *surf300*, *surf400*, *surf500* et *dist*) et la saison. Les mâles de campagnols terrestres étaient, d'après le modèle mono-spécifique construit précédemment, plus fréquemment exposés que les femelles. Dans le modèle explicatif de l'occurrence des AVKs, une variable « Taxon-Sexe » a donc été utilisée ; elle comportait 7 modalités : Campagnol des champs, Campagnol roussâtre, Campagnol terrestre femelle, Campagnol terrestre mâle, Mulot *sp*, Rat surmulot et Souris domestique.

Les modèles explicatifs des concentrations d'AVKs incluaient les variables de caractérisation des traitements (*Usage*, *surf50*, *surf100*, *surf200*, *surf300*, *surf400*, *surf500* et *dist*) et la saison. Aucune influence du sexe sur les concentrations non nulles d'AVKs dans les rongeurs n'a été mise en évidence dans les modèles mono-spécifiques. Dans le modèle pluri-spécifique la variable Taxon a donc été utilisée ; elle comportait 6 modalités : Campagnol des champs, Campagnol roussâtre, Campagnol terrestre, Mulot *sp*, Rat surmulot et Souris domestique. La variable réponse de ce modèle (concentrations positives totales d'AVKs) a été log-transformée pour satisfaire au critère de normalité des résidus, aucun effet mixte n'a été ajouté dans les modèles car l'inclusion d'un effet mixte rendait les résidus spatialement autocorrélés. L'absence d'influence de données en particulier (*outliers*) sur le modèle a été contrôlée en utilisant la distance de Cook, comme détaillé dans Zuur *et al.* (2009).

En secteur biocide, les concentrations non nulles des différents AVKs ont été comparées en utilisant un test de Kruskal-Wallis suivi d'un test de comparaison multiple (Siegel & Castellan 1988) car les présupposés des modèles linéaires n'étaient pas respectés. En secteur PPP et pour les individus exposés à 2 AVKs (toujours la bromadiolone et la diféthialone) les concentrations des 2 AVKs ont été comparées en utilisant, en raison des faibles effectifs ($n=9$), le test de rang de Wilcoxon pour échantillons appariés (Siegel & Castellan 1988).

Pour les GAM, l'estimation du degré de lissage des termes du modèle a été faite de façon automatique par une procédure optimisant le score GCV. La méthode de lissage utilisée était la méthode de *Spline* en Plaque Mince. Pour tous les modèles, l'autocorrélation spatiale résiduelle a été contrôlée par tracé d'un variogramme des résidus et d'une enveloppe variographique correspondant à 9999 permutations des valeurs des points de mesure au hasard (Diggle & Ribeiro Jr 2007). Les analyses statistiques et les graphiques ont été réalisés avec le logiciel R version 3.0.0 (2013-04-03) (R Development Core Team 2013) et les packages gamm4 version 0.1-6 (Wood 2013), geoR version 1.7-4 (Diggle & Ribeiro Jr 2007), gstat version 1.0-16 (Pebesma & Bivand 2005), mapdata version 2.2-2 (Becker & Wilks 2013), maptools version 0.8-23 (Bivand & Lewin-Koh 2013), mgcv version 1.7-22 (Wood 2006), pgirmess version 1.5-7 (Giraudeau 2013) et raster version 2.1-25 (Hijmans & van Etten 2013). Les cartes ont été réalisées avec le logiciel QGIS-GRASS version 1.7.4 (Quantum GIS Development Team 2012).

II.3. Résultats

II.3.1. Traitements rodenticides PPPs : intensité et chronologie par rapport à la collecte des rongeurs

Les traitements les plus importants ont eu lieu à l'automne à Boujailles : la surface traitée et la quantité d'appâts utilisée y étaient les plus grandes (Tableau 9). Aux Combes les traitements étaient 4 fois plus intensifs (en termes de quantités d'appâts par surface traitée) à l'automne qu'au printemps : une plus petite surface était traitée à l'automne avec une plus grande quantité d'appâts (Tableau 9). Les traitements les moins intensifs ont eu lieu à Echevannes où une quantité de 0,75 kg d'appâts par hectare était globalement utilisée.

Tableau 9. Surface traitée, quantité d'appâts délivrée et quantité d'appâts délivrée par hectare traité dans chaque commune et à chaque saison.

Saison	Communes	Surface traitée (ha)	Quantités d'appâts (kg)	Quantité d'appâts par surface traitée (kg/ha)
Printemps	Echevannes	80	60	0,75
	Les Combes	86	100	1,16
Automne	Boujailles	131	880	6,72
	Les Combes	64	299	4,67

La totalité des traitements PPP d'une commune était faite en 1 à 6 jours sauf à Boujailles où les traitements se sont étalés sur 1 mois. Le décalage entre les traitements et la collecte des rongeurs était de 52 à 54 jours à Echevannes, 11 à 24 jours aux Combes au printemps, 2 à 15 jours aux Combes à l'automne. A Boujailles 2 sessions de piégeage ont eu lieu du 04 au 08/10 et du 27 au 29/10 (soit 21 à 25 jours plus tard) ; 4% des surfaces ont été traitées le 01/09 (plus d'1 mois avant les premiers piégeages), 83 % des surfaces ont été traitées entre le 10 et le 14/09 (soit 21 à 25 jours avant le début des premiers piégeages), et 12 % des surfaces ont été traitées du 30/09 au 01/10 (soit 3 à 4 jours avant les premiers piégeages). De plus à Boujailles, 3 cadavres de campagnols terrestres ont été observés et ramassés sur une parcelle traitée le 21/09 (7 jours après les traitements sur cette parcelle).

II.3.2. Succès de capture des différentes espèces de rongeurs

Globalement, les espèces les plus capturées étaient les mulots, les campagnols roussâtres, les campagnols des champs et les campagnols terrestres (de 147 à 550 individus selon l'espèce ; Tableau 10). Le succès de capture sur les lignes standardisées (tous milieux échantillonnés confondus) était toujours plus grand pour les Mulots que pour le Campagnol roussâtre, sauf sur les communes PPP à l'automne où c'était l'inverse (Tableau 11). Les campagnols terrestres ont été très peu piégés sur les communes biocides (n=2). Les rongeurs commensaux ont été peu prélevés (57 individus de rats et souris domestiques au total ; Tableau 10), tous ayant été capturés à moins de 35 m des traitements biocides potentiels c.-à-d. des bâtiments. Aucun rat ne provenait de commune PPP et seulement 5 des 42 souris y avaient été capturées (toutes dans un local de stockage des appâts bromadiolone PPP). Certaines espèces ont été capturées très rarement : Campagnol souterrain, Campagnol agreste et Rat des moissons (2 individus de chaque espèce ; Tableau 10). Parmi ces captures et sur les communes PPP à l'automne, 6 cadavres de campagnols terrestres, 2 cadavres de campagnols des champs et 1 campagnol des champs moribond ont été prélevés sur des parcelles traitées à la bromadiolone. Sur les communes biocides, 2 cadavres de rats ont été ramassés à l'automne à proximité de traitements biocides aux AVKs.

II. Distribution des contaminations aux AVKs dans les communautés de rongeurs

Tableau 10. Effectifs de rongeurs capturés par saison, par usage, par commune et par espèce.

Saison	Usage AVKs	Commune	Mulot sp	Camp. rou.	Camp. des cha.	Camp. ter.	Rat sur.	Souris dom.	Camp. sou.	Camp. agr.	Rat des moi.
Printemps	Biocide	Aboncourt-Gésincourt	51	26	11	2	1	5	0	1	0
		Gouhelans	51	8	17	0	6	1	0	0	0
		Rillans	56	4	3	0	3	16	0	0	1
		total biocide	158	38	31	2	10	22	0	1	1
	PPP	Echevannes	81	29	5	57	0	0	0	0	0
		Les Combes	78	64	8	65	0	0	2	0	0
		total PPP	159	93	13	122	0	0	2	0	0
Automne	Biocide	Aboncourt-Gésincourt	75	45	36	0	0	3	0	0	1
		Gouhelans	31	7	30	0	1	0	0	0	0
		Rillans	44	5	6	0	4	12	0	0	0
		total biocide	150	57	72	0	5	15	0	0	1
	PPP	Boujailles	28	56	16	39	0	5	0	0	0
		Les Combes	55	102	15	62	0	0	0	1	0
		total PPP	83	158	31	101	0	5	0	1	0
TOTAL			550	346	147	225	15	42	2	2	2

Mulot sp *Apodemus sp*, Camp. rou. : Campagnol roussâtre *Myodes glaerolus*, Camp. des cha. : Campagnol des champs *Microtus arvalis*, Camp. ter. : Campagnol terrestre *Arvicola terrestris*, Rat sur. : Rat surmulot *Rattus norvegicus*, Souris dom. : Souris domestique *Mus musculus domesticus*, Camp. sou. : Campagnol souterrain *Microtus subterraneus*, Camp. agr. : Campagnol agreste *Microtus agrestis*, Rat des moi. : Rat des moissons *Micromys minutus*.

Tableau 11. Succès de capture pour les espèces les plus capturées (Mulot sp *Apodemus sp* et Campagnol roussâtre *Myodes glaerolus*) sur les lignes standardisées (nombre de captures pour 100 nuits/pièges) par saison par usage des AVKs. Une nuit piège correspond à un piège laissé une nuit sur site.

Saison	Usage AVKs	Commune	Mulot sp <i>Apodemus sp</i>	Campagnol roussâtre <i>Myodes glaerolus</i>
Printemps	Biocide	Aboncourt-Gésincourt	1,5	0,8
		Gouhelans	3,7	0,7
		Rillans	3,5	0,3
	PPP	Echevannes	7,8	2,8
		Les Combes	4,4	3,6
Automne	Biocide	Aboncourt-Gésincourt	4,1	2,5
		Gouhelans	3,8	0,9
		Rillans	5,4	0,6
	PPP	Boujailles	2,1	4,1
		Les Combes	6,1	11,3

II.3.3. Espèces exposées, nombre de molécules et principales molécules retrouvées

Globalement, les AVKs ont été plus retrouvés dans les rongeurs des communes PPP (19,2 % d'individus exposés, 74/385) que dans les rongeurs des communes biocides (8,2 % d'exposés, 32/389) (test du Chi-2 ; $p < 0,001$).

Dans les communes biocides, 81,3% des individus exposés l'étaient à 1 seul AVK ($n=26$), 12,5% à 2 AVKs ($n=4$), 3,1% à 3 AVKs ($n=1$) et 3,1% à 4 AVKs ($n=1$). Parmi les individus exposés, 40,6 % contenaient de la chlorophacinone ; 28,1 % du brodifacoum ; 25 % du difénacoum ; 21,8 % de la bromadiolone et 12,5% de la diféthialone (Figure 13a). Le coumafène, le coumatétralyl et le flocoumafène n'ont jamais été retrouvés. Les individus exposés à 1 seul AVK étaient des mulots ($n=13$), des campagnols roussâtres ($n=2$), des campagnols des champs ($n=2$), des souris domestiques ($n=5$) et des rats surmulots ($n=4$) (Figure 13b) (à noter que l'utilisation de méthodes de capture différentes selon les espèces ne permet pas de comparer directement les effectifs de rongeurs exposés). Les individus exposés à plusieurs AVKs étaient toujours des espèces commensales (2 souris domestiques et 4 rats surmulots) et la chlorophacinone était toujours retrouvée (Figure 13ab). Elle était associée à des SGARs : à la diféthialone seule ($n=1$), au brodifacoum seul ($n=2$), à la bromadiolone seule ($n=1$), au difénacoum et au brodifacoum ($n=1$), à la bromadiolone, au difénacoum et au brodifacoum ($n=1$). Dans les rongeurs piégés dans les communes biocides, les concentrations de chlorophacinone retrouvées n'étaient pas différentes de celles des SGARs (test de Kruskal-Wallis suivi d'un test de comparaison multiple, $p > 0,05$). Les concentrations retrouvées différaient entre la bromadiolone et toutes les autres molécules (test de Kruskal-Wallis suivi d'un test de comparaison multiple, $p < 0,05$). Les profils des molécules retrouvées dans les individus exposés différaient entre les communes biocides. La molécule la plus retrouvée à Rillans était la chlorophacinone, aussi bien au printemps (75% des individus positifs) qu'à l'automne (83% des individus positifs). La chlorophacinone n'était pas du tout retrouvée à Gouhelans où seuls des SGARs étaient retrouvés dans les rongeurs. A Aboncourt-Gésincourt, la molécule la plus retrouvée n'était pas la chlorophacinone mais 1 SGAR aux 2 saisons (difénacoum au printemps ; 67% des individus exposés et brodifacoum à l'automne ; 50 % des individus exposés).

Dans les communes PPP, 87,8 % des individus exposés ($n=65$) l'étaient à 1 seul AVK ; la bromadiolone ; et 12,2 % ($n=9$) à 2 AVKs ; la bromadiolone et la diféthialone (Figure 13a). Les autres AVKs n'ont jamais été retrouvés. Les individus exposés à la bromadiolone uniquement étaient des campagnols terrestres ($n=22$), des mulots ($n=20$), des campagnols roussâtres ($n=13$), des campagnols des champs ($n=9$) et des souris domestiques ($n=1$) (Figure 13b) (à noter que, comme en secteur PPP, l'utilisation de méthodes de capture différentes selon les espèces ne permet pas de comparer directement les effectifs de rongeurs exposés). Les individus exposés à la bromadiolone et la diféthialone étaient tous des individus collectés à l'automne : des souris domestiques piégées dans un local de stockage des appâts PPP bromadiolone ($n=4$) (commune de Boujailles), ainsi que des campagnols terrestres ($n=3$) et des campagnols des champs ($n=2$) collectés sur des parcelles traitées

à la bromadiolone (Figure 13b) (commune des Combes). Les concentrations de diféthialone retrouvées dans ces rongeurs étaient 73 à 1998 fois inférieures à celles de bromadiolone mesurées dans les mêmes individus (test de Wilcoxon pour échantillons appariés, $p < 0,01$).

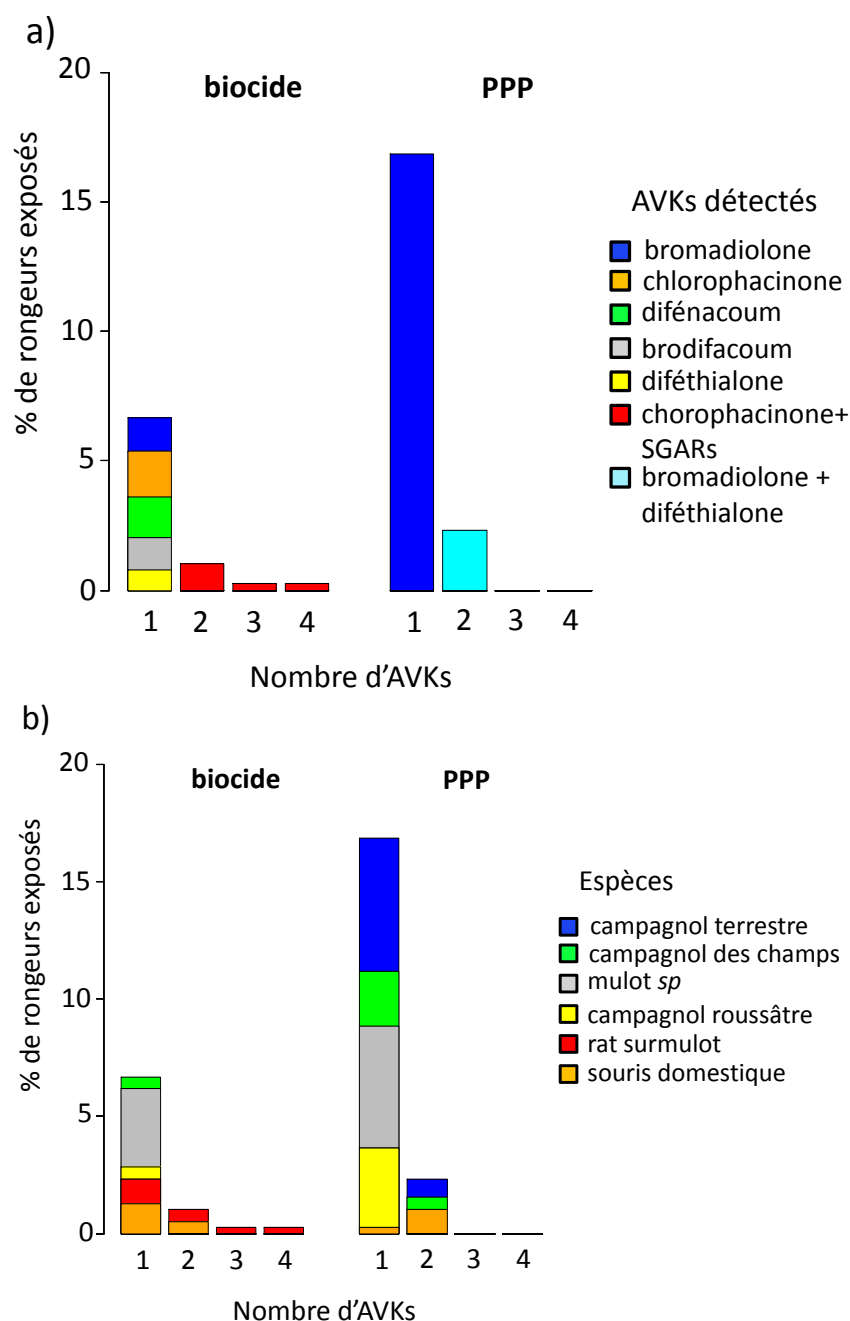


Figure 13. Pour chaque usage (biocide ou PPP), pourcentage de rongeurs exposés en fonction du nombre d'AVKs détectés et détail des a) molécules retrouvées, b) espèces concernées.

II.3.4. Caractérisation de la distribution des AVKs dans la communauté de rongeurs

Les modèles GLM explicatifs de l'occurrence d'AVKs dans les rongeurs avaient un AIC plus faible que leur équivalent GAM, indiquant une linéarité de la réponse sur le prédicteur linéaire. L'occurrence d'AVKs était la mieux expliquée par la distance des rongeurs aux traitements (variable *dist*) et par le taxon considéré (variable « Taxon-sexe »). La part de déviance expliquée par le modèle était de 20,2%. Les variables *random* du modèle à effets mixtes commune et lignes de capture expliquaient 9,6 % de la déviance et la distance au traitement et le taxon-sexe expliquaient les 11,6% restants. Les rats surmulots étaient plus fréquemment exposés que tous les autres taxons ; 66,7 % des 12 rats échantillonnés contenaient des AVKs. Les AVKs étaient détectés plus fréquemment chez les souris domestiques (37,5% d'individus positifs) que chez les mulots (9,1% de positifs), les campagnols roussâtres (10% de positifs) et les campagnols terrestres femelles (11,9% de positifs) (Tableau 12). Il est à noter que 5 des 12 souris exposées ont été piégées dans les communes PPP (Tableau 12) dans un local de stockage des appâts bromadiolone PPP et sont donc représentatives d'une situation particulière. Le taux d'individu positif chez les campagnols terrestres mâles (26,1%) et chez les campagnols des champs (14,6%) (Tableau 12) ne différaient que des rats et pas des autres taxons.

La moitié des individus exposés ont été piégés au niveau des traitements biocides ou PPP et 75% ont été piégés à moins de 30m des traitements (Figure 14a). La moitié des individus non exposés ont été piégés à moins de 64 m des traitements et 75% d'entre eux ont été piégés à moins de 322m des traitements (Figure 14a). Quelques individus exposés aux AVKs ont été capturés à plus de 100m des traitements potentiels ou avérés. Dans les communes biocides, c'est le cas pour 4 individus (Figure 14b) : 2 mulots piégés à 223 et 558 m, 1 campagnol des champs piégé à 289 m et 1 campagnol roussâtre piégé à 736 m. Sur les communes PPP, 6 individus exposés ont été capturés à plus de 100 m des traitements ; 5 mulots et 1 campagnol roussâtre. Un seul individu (1 mulot) a été piégé à plus de 200 m des traitements (362 m). Tous les campagnols terrestres exposés ont été piégés sur les parcelles traitées et ils représentaient 41% des individus piégés sur les parcelles traitées. Enfin sur les communes PPP, 80% des individus étaient plus près d'un traitement PPP que d'un traitement biocide potentiel.

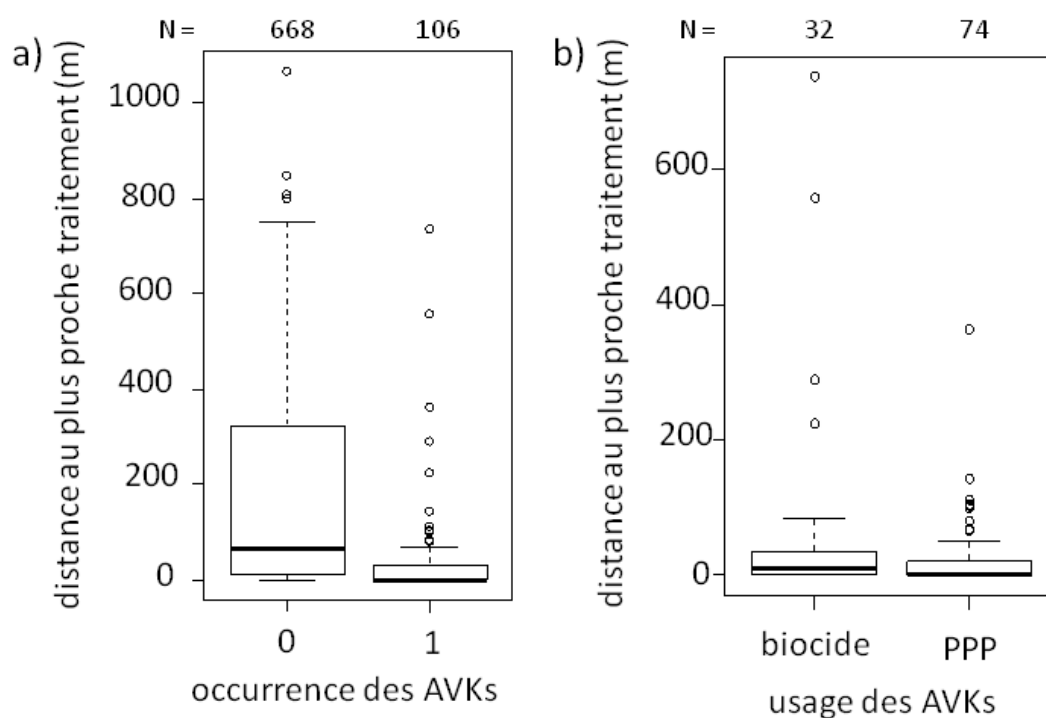


Figure 14. Distance au plus proche traitement (m) a) en fonction de l'occurrence d'AVKs (0 : absence et 1 : présence) dans les rongeurs capturés b) des individus exposés aux AVKs pour chacun des usages (biocide et PPP). Les effectifs impliqués dans chaque catégorie sont indiqués au-dessus des graphiques (N).

Tableau 12. Pourcentages d'individus exposés aux AVKs par espèce par usage et par saison.

		Mulot sp	Campagnol roussâtre	Campagnol des champs	Campagnol terrestre		Souris domestique	Rat surmulot
					mâle	femelle		
Biocide	Printemps	6,2 (7/113)	3 (1/33)	4,8 (1/21)	NA	0 (0/2)	40 (6/15)	66,7 (6/9)
	Automne	5,2 (6/115)	3,4 (1/29)	2,7 (1/37)	NA	NA	8,3 (1/12)	66,7 (2/3)
	TOTAL	5,7 (13/228)	3,2 (2/62)	3,4 (2/58)	NA	0 (0/2)	25,9 (7/27)	66,7 (8/12)
PPP	Printemps	10 (8/80)	18,2 (8/44)	30 (3/10)	18,2 (6/33)	3,2 (1/31)	NA	NA
	Automne	21,8 (12/55)	11,4 (5/44)	38,1 (8/21)	33,3 (12/36)	23,1 (6/26)	100 (5/5)	NA
	TOTAL	14,8 (20/135)	14,8 (13/88)	35,5 (11/31)	26,1 (18/69)	12,3 (7/57)	100 (5/5)	NA
TOTAL		9,1 (33/363)	10 (15/150)	14,6 (13/89)	26,1 (18/69)	11,9 (7/59)	37,5 (12/32)	66,7 (8/12)

NA : pas de données car aucun individu échantillonné dans cette catégorie

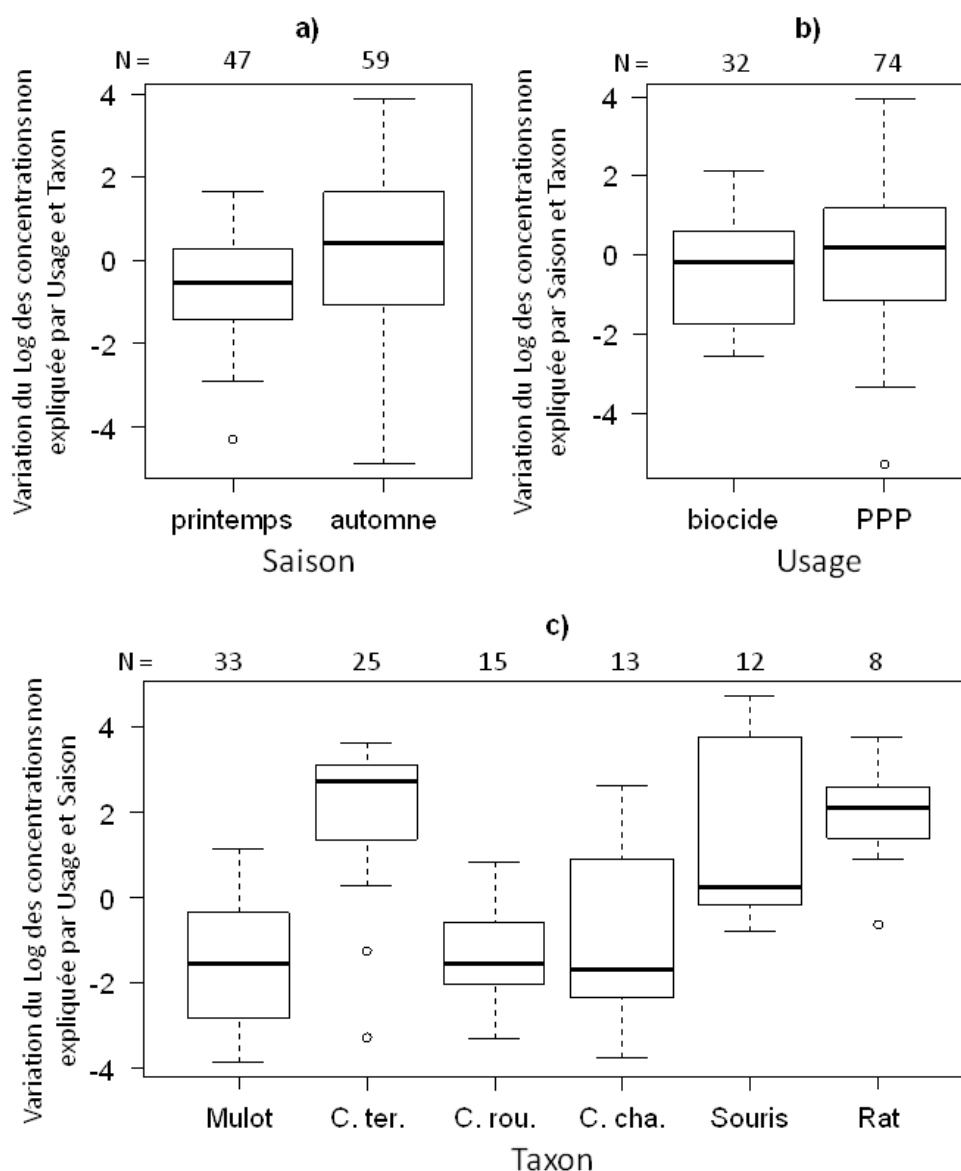
Les GAM monovariés explicatifs du log des concentrations dans les rongeurs avaient un AIC plus faible que leur équivalent GLM mais les relations modélisées n'étaient pas aisément interprétables biologiquement. La sélection ascendante a été donc faite en utilisant les GLM uniquement. Le log des concentrations positives était le mieux expliqué par le taxon considéré, l'usage des AVKs (biocide ou PPP) et par la saison de capture. Le modèle permettait d'expliquer 57,6 % de la variation du log des concentrations positives.

Les variations des concentrations non nulles d'AVKs étaient essentiellement expliquées par le taxon puisque le R^2 partiel de cette variable était de 42,9%. Les concentrations d'AVKs étaient plus élevées dans les espèces ciblées par les traitements (Campagnol terrestre, Rat surmulot et Souris domestique) que dans les taxons non-cibles (Campagnol des champs, Mulots et Campagnol roussâtre) (Figure 15c). Les médianes des concentrations positives étaient de 655,3 ; 107,2 et 17,0 $\mu\text{g/kg}$ dans le corps des espèces cibles (Campagnol terrestre, Rat surmulot et Souris domestique respectivement) et de 6,0 ; 5,1 et 4,4 $\mu\text{g/kg}$ dans le corps des espèces non-cibles (Campagnol des champs, Campagnol roussâtre et Mulots respectivement). Au moins 42 % des individus positifs de chaque espèce cible avaient des concentrations dépassant 100 $\mu\text{g/kg}$ (ordre de grandeur des plus faibles DL50 des AVKs chez les mammifères ; 130 $\mu\text{g/kg}$ pour le flocoumafène, Commission Directive 98/8/EC 2009c et 400 $\mu\text{g/kg}$ pour le brodifacoum et la diféthialone, Commission Directive 98/8/EC 2009b ; Commission Directive 98/8/EC 2007a) (Tableau 13). La quasi-totalité des campagnols terrestres (92%) présentait des concentrations dépassant ce seuil. Les souris dépassant ce seuil étaient uniquement celles piégées dans un contexte PPP. Les autres souris contenaient des AVKs à des concentrations du même ordre que les espèces non-cibles : elles s'élevaient de 4 à 18 $\mu\text{g/kg}$. Au moins 12,5 % des individus de chaque espèce cible avaient des concentrations supérieures à 1000 $\mu\text{g/kg}$ (Tableau 13). Seule 1 souris contenait une concentration en AVKs supérieure à 10000 $\mu\text{g/kg}$. Les concentrations dans les campagnols roussâtres ne dépassaient jamais 100 $\mu\text{g/kg}$, c'était le cas pour 6,1 % des mulots et pour 30,7 % des campagnols des champs (uniquement des individus capturés en contexte PPP) (Tableau 13).

La saison et l'usage expliquaient une faible part de la variation des concentrations (R^2 partiels respectifs de 5 et 2,4%). Les concentrations étaient plus variables (plus basses et plus hautes) mais plus élevées en automne qu'au printemps (Figure 15a) avec des concentrations médianes et maximales dans les rongeurs de 9,8 et 655,3 $\mu\text{g/kg}$ au printemps et de 112,9 et 11912,2 $\mu\text{g/kg}$ à l'automne. Les rongeurs positifs capturés sur les communes PPP contenaient de plus grandes concentrations d'AVKs que les rongeurs capturés sur les communes biocides (Figure 15b) ; dans les rongeurs capturés sur les communes biocides les concentrations médianes et maximales étaient de 10,3 et 1817,5 $\mu\text{g/kg}$ contre 36,7 et 11912,2 $\mu\text{g/kg}$ pour les rongeurs des communes PPP. La part de variation totale expliquée par le modèle était supérieure de près de 7% à la somme des R^2 partiels ; ce qui signifie que 7 % de la variation totale résultait d'une action combinée de l'usage, du taxon et de la saison.

Tableau 13. Part d'individus de chaque espèce (%) présentant des concentrations d'AVKs supérieures à 100 µg/kg, 1000 µg/kg et 10000 µg/kg.

% d'individus dont la concentration est supérieure à	Souris domestique	Rat surmulot	Campagnol terrestre	Campagnol des champs	Campagnol roussâtre	Mulot <i>sp</i>
100 µg/kg	41,7 (n=5)	50 (n=4)	92 (n=23)	30,7 (n=4)	0	6,1 (n=2)
1000 µg/kg	33,3 (n=4)	12,5 (n=1)	44 (n=11)	7,7 (n=1)	0	0
10000 µg/kg	8,3 (n=1)	0	0	0	0	0



II.3.5. Caractérisation de la distribution des contaminations aux AVKs au sein de chaque taxon

Les GAM monovariés explicatifs du log des concentrations dans les rongeurs avaient un AIC plus faible ou équivalent à leur équivalent GLM mais les relations modélisées n'étaient pas aisément interprétables biologiquement. La sélection ascendante a été donc faite en utilisant les GLM. L'âge n'a jamais été retenu dans les modèles mono-spécifiques. Chez les rats et souris aucune variable n'avait d'influence significative ou n'a été retenue lors de la sélection par AIC des modèles explicatifs de l'occurrence ou des niveaux de concentrations d'AVKs (Tableau 14).

Tableau 14. Variables sélectionnées, AICc, R² des modèles mono-spécifiques explicatifs de l'occurrence des AVKs et du log des concentrations non nulles pour chaque taxon (Mulot *sp*, Campagnol roussâtre, Campagnol terrestre, Campagnol des champs et Souris domestique) et N : nombre de rongeurs impliqués dans chaque modèle.

Taxon	Variable réponse	Variables explicatives retenues	AICc	R ² ajusté	N
Mulot <i>sp</i>	occurrence des AVKs	surf500	208,6	4,9	351
	log (concentrations +1)	Aucune	103,7	0	33
Campagnol roussâtre	occurrence des AVKs	surf400	91,6	5,6	144
	log (concentrations +1)	Aucune	47	0	15
Campagnol terrestre	occurrence des AVKs	surf50 + sexe	72,0	33,2	116
	log (concentrations +1)	Aucune	83,2	0	20
Campagnol des champs	occurrence des AVKs	Usage	57,3	14	85
	log (concentrations +1)	Aucune	48,5	0	11
Souris domestique	occurrence des AVKs	Aucune	29,7	0	25
	log (concentrations +1)	Aucune	44,3	0	11

Le sexe était influent dans un seul cas : l'occurrence d'AVKs chez le Campagnol terrestre (Tableau 14) ; les mâles étaient contaminés plus fréquemment que les femelles (Figure 16a). L'usage expliquait le mieux l'occurrence d'AVKs chez une seule espèce ; le Campagnol des champs (Tableau 14) : les individus capturés dans un contexte PPP étaient plus exposés aux AVKs (35,5% de positifs) que ceux capturés dans un contexte biocide (3,4 % de positifs) (Tableau 12).

Les variables de caractérisation des traitements expliquant le mieux l'occurrence d'AVKs (c.-à-d. les variables retenues dans la sélection par AIC) des autres espèces étaient toujours les surfaces traitées autour des rongeurs mais mesurées dans des fenêtres dont les rayons différaient entre tous les taxons considérés. L'occurrence d'AVKs chez le Campagnol terrestre était la mieux expliquée par la surface traitée dans la plus petite fenêtre d'analyse testée soit 50 m de rayon (Tableau 14). Les tailles de fenêtre sélectionnées étaient de 400m pour le Campagnol roussâtre et 500 m pour les Mulots (Tableau 14). La probabilité d'occurrence d'AVKs augmentait de façon exponentielle avec les surfaces traitées quels que soient le taxon et donc la taille de fenêtre considérés (Figure 16abc). Une grande incertitude dans la prédiction des probabilités d'occurrence d'AVKs était cependant notée pour les plus grandes surfaces traitées pour les Mulots et le Campagnol roussâtre ; cela en raison des faibles effectifs de rongeurs impliqués. La variation d'occurrence des AVKs était plus faiblement

expliquée chez les Mulots et le Campagnol roussâtre (r^2 partiels de 4,9 et 5,6 %) que chez le Campagnol des champs et le Campagnol terrestre (r^2 partiels de 14 et 33,2%) (Tableau 14). Aucune variable n'a été sélectionnée dans les modèles explicatifs du log des concentrations positives (Tableau 14).

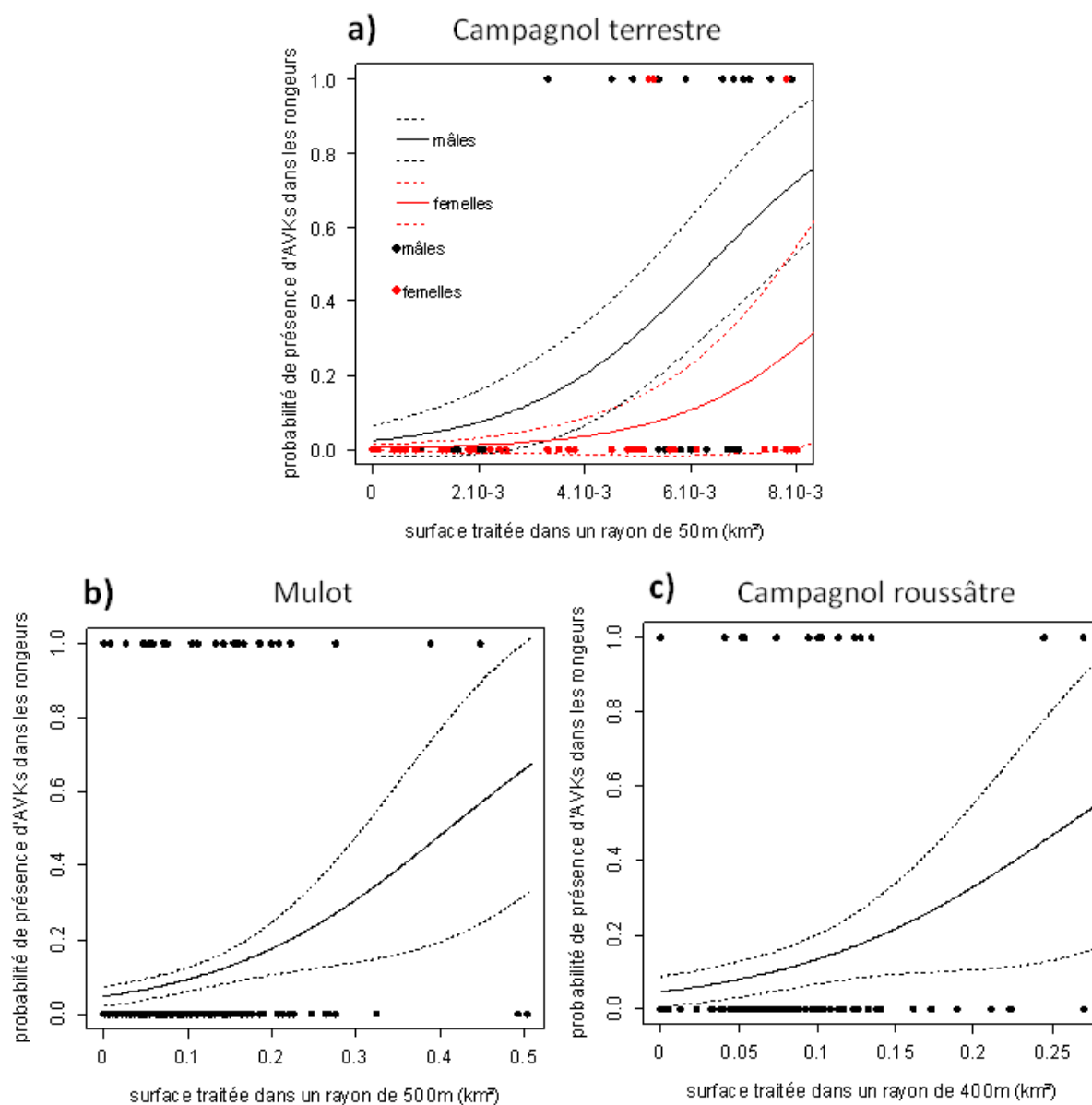


Figure 16. Probabilité de présence d'AVKs dans les rongeurs en fonction des variables sélectionnées par AIC dans les modèles monospécifiques pour le Campagnol terrestre (a), les Mulots (b) et le Campagnol roussâtre (c).

II.4. Discussion

II.4.1. Fréquence et niveaux de contamination des espèces cibles et non-cibles des traitements AVKs

Nos résultats confirment l'exposition des espèces non ciblées par les traitements biocides AVKs : c.-à-d. Mulots sylvestre ou à collier, Campagnol roussâtre et campagnols du genre *Microtus*, comme démontré précédemment, notamment au Royaume-Uni par Townsend, Entwisle & Hart (1995), Brakes & Smith (2005) et Tosh *et al.* (2012). Cependant, notre étude montre pour la première fois que les traitements PPP à la bromadiolone menés contre le Campagnol terrestre (blé empoisonné enfoui dans le sol) n'attirent pas que le Campagnol terrestre et le Campagnol des champs ; les Mulots et le Campagnol roussâtre sont également exposés à la bromadiolone à proximité des parcelles traitées.

Si les campagnols terrestres sont aussi fréquemment exposés que les espèces non-cibles, les espèces ciblées par les traitements biocide (rats / souris) sont plus souvent contaminées que les mulots et les campagnols roussâtres. Le taxon considéré n'explique cependant que faiblement la présence ou l'absence d'AVKs dans les rongeurs (moins de 12% de la déviance totale est expliquée par les variables de l'effet fixe du modèle explicatif de l'occurrence d'AVKs dans la communauté de rongeurs). De plus, de faibles effectifs de rongeurs commensaux sont impliqués dans nos modèles, et leur échantillonnage puisque non standardisé ne permet pas une comparaison directe de leurs fréquences d'exposition avec celles des espèces non-cibles. Cependant nos résultats sont cohérents avec ceux obtenus par Tosh *et al.* (2012) dans le cadre d'un échantillonnage standardisé. Leur étude est la seule, à notre connaissance, à avoir également comparé les fréquences d'exposition des rongeurs cibles et non-cibles biocides via la quantification des résidus d'AVKs dans les rongeurs. Dans leur étude, les souris (n=12) présentent plus fréquemment des AVKs dans le foie que les mulots (n=55) (33 % versus 15%). Ces proportions sont similaires aux nôtres (37,5% de souris exposées versus 9,1% de mulots globalement et 25,9% versus 5,7% en contexte biocide), et cela malgré le fait que Tosh *et al.* (2012) aient quantifié les résidus dans le foie des rongeurs ; donc qu'ils détectaient les AVKs avec une plus grande sensibilité que dans notre étude (résidus quantifiés dans le corps entier des rongeurs).

L'espèce considérée explique faiblement la présence ou l'absence d'AVKs mais elle conditionne en grande partie les niveaux de contamination des individus exposés aux AVKs (r^2 partiel associé à l'espèce de 42,9 %). Au sein des communautés de rongeurs échantillonnées, les espèces ciblées par les traitements (rats, souris et campagnols terrestres) présentent des concentrations d'AVKs supérieures à celles des espèces non-cibles (mulots, campagnols roussâtres et campagnols des champs) ; avec un facteur allant de 3 à 149 entre les concentrations médianes selon les couples d'espèces considérés. Le cas des souris est particulier. Dans un contexte biocide, les concentrations d'AVKs mesurées dans les souris sont similaires à celles des espèces non cibles, ce qui est une fois de plus cohérent avec les données de Tosh *et al.* (2012) qui a trouvé des concentrations similaires d'AVKs dans les souris et les mulots. La différence des concentrations dans les souris avec les autres

espèces tiendrait à la très forte contamination des individus piégés dans un local de stockage des appâts bromadiolone utilisés dans la lutte contre le Campagnol terrestre ; un individu atteint même une concentration 10 fois supérieure à la DL50 associée à l'ingestion de bromadiolone chez la souris (1 mg/kg ; Newton *et al.* 1999). Rats surmulots et campagnols terrestres sont en revanche nettement plus contaminés (50 et 92 % des concentrations dépassant 0,1 mg/kg) que les espèces non-cibles ; en particulier le Campagnol roussâtre et les Mulots (0 ou 6 % des concentrations dépassant 0,1 mg/kg). Les moindres concentrations dans les espèces non-cibles ne sont *a priori* pas dues à une plus faible accumulation des AVKs ou attirance pour les appâts. En effet, dans les tests de laboratoire ou les tests *in situ* d'efficacité des appâts (FGARs ou SGARs), donc dans des situations où les appâts sont largement disponibles, les concentrations mesurées dans les espèces exposées, qu'elles soient cibles ou non-cible sont similaires et toujours de l'ordre du mg/kg (Erickson & Urban 2004 ; Giraudoux *et al.* 2006 ; Sage *et al.* 2008 ; Delattre & Giraudoux 2009 ; Commission Directive 98/8/EC 2009c ; Vyas, Hulse & Rice 2012). Dans certains cas, les espèces non-cibles peuvent même être plus exposées que les espèces cibles. Dans une étude *in situ* où les appâts au flocoumafène (taux de 0,005 % de matière active) sont appliqués de manière à ne jamais manquer, les résidus moyens de cet AVK dans les rats (0,6 mg/kg) correspondent à une dose équivalente à une part de 20 % d'appâts dans le régime et sont plus faibles que ceux dans les rongeurs non-cibles (campagnols, souris domestiques et mulots sylvestres) qui équivalent à une part de 50% d'appâts dans le régime (Commission Directive 98/8/EC 2009c). Sur des parcelles traitées à la chlorophacinone contre le Chien de prairie à queue noire, les concentrations de cet AVK sont plus élevées dans les spermophiles rayés (7,04 mg/kg et 7,56 mg/kg, n=2) que dans l'espèce cible (jamais supérieures à 5 mg/kg, n=10) (Vyas, Hulse & Rice 2012). Ainsi, cette différence dans la contamination des espèces cibles et non-cibles tiendrait à l'accessibilité des appâts pour les différentes espèces ; elle-même conditionnée par leur occupation des milieux.

Les traitements biocides ciblent principalement les rats et souris, espèces essentiellement commensales et les appâts sont ainsi essentiellement appliqués à l'intérieur des bâtiments ou aux alentours. Dans l'étude de Tosh *et al.* (2011) (Nord de l'Irlande), 68% des 162 agriculteurs enquêtés utilisaient des appâts à l'intérieur des bâtiments, 48% en utilisaient à l'extérieur et 10 % des enquêtés utilisaient des appâts loin des bâtiments (champs ou haies). Or, Mulots et Campagnol roussâtre ne sont qu'occasionnellement commensaux ; ils auraient ainsi un accès réduit à la majorité des traitements biocides. Concernant les traitements contre le Campagnol terrestre, les appâts ne peuvent être utilisés que sur les signes de présence de cette espèce donc en milieu ouvert et doivent être enfouis (Préfet du Doubs 2007). Or, Mulots et Campagnol roussâtre évoluent principalement dans les habitats boisés ou buissonnants et en surface (Giraudoux 1991 ; Harris *et al.* 1995 ; Quéré & Le Louarn 2011). Ils ne sont jamais piégés dans les galeries de campagnols terrestre (Denis Truchetet comm. pers.) et rarement en surface dans les zones d'*openfield* (Giraudoux 1991). Ce comportement limite leur accès aux appâts enfouis au milieu des prairies, et leur intoxication résulterait probablement plus de la consommation des appâts enfouis à proximité des haies, lisières ou buissons qui les abritent et/ou de la consommation des appâts mal enfouis (phénomène potentiellement plus fréquent

à proximité des haies ou lisières si l'agriculteur doit relever sa charrue de traitement). Le Campagnol des champs est une espèce de milieux ouverts (Giraudoux 1991) et qui est plus souterraine que les Mulots et le Campagnol roussâtre (Quéré & Le Louarn 2011). Dans notre étude, sa plus grande fréquence de contamination aux AVKs dans un contexte PPP, lorsque les appâts sont enfouis, confirme l'influence du mode d'occupation des milieux par les espèces sur leur niveau de contamination. De plus, et comme observé par Sage *et al.* (2008) ; les concentrations dans les campagnols des champs piégés sur les parcelles traitées à la bromadiolone peuvent atteindre des niveaux létaux (soit 1 mg/kg ; DL50 chez la souris) alors que ce n'est le cas pour aucun mulots ou campagnols roussâtres.

Notre étude est la première qui permette de caractériser la fréquence et les niveaux d'exposition dans les principales espèces de la communauté de rongeurs et dans 2 contextes d'usage. Nous montrons en particulier que les fréquences et les niveaux de contamination dans les différentes espèces de rongeurs sont, à l'échelle du paysage, conditionnées par leur occupation des milieux et donc leur accessibilité aux appâts.

II.4.2. Influence de l'usage des AVKs (biocide ou PPP) et de leur saisonnalité sur la contamination des rongeurs

Excepté pour le Campagnol des champs, qui de par son occupation des milieux est plus exposé dans un contexte PPP, nous n'avons pas montré d'influence de l'usage sur l'occurrence d'AVKs dans les rongeurs (pour une autre espèce ou dans le modèle considérant l'ensemble de la communauté de rongeurs). Au sein de la communauté de rongeurs, l'influence de l'usage sur les niveaux de contaminations non nulles des rongeurs est par ailleurs très limitée (r^2 partiel de 2,4%). Le déséquilibre des effectifs d'espèces cibles (rats, souris et campagnols terrestres) entre les usages a pu limiter une évaluation précise de l'influence de l'usage sur la fréquence et les niveaux de contamination des rongeurs. Cependant, l'absence de bromadiolone dans les campagnols terrestres piégés hors des parcelles traitées à la bromadiolone sur les communes PPP et la faible contamination du Campagnol des champs (espèce prairiale également) dans un contexte biocide nous permettent d'avancer que la contamination des campagnols terrestres présents dans les prairies des communes biocides est, si existante, probablement très faible.

Par ailleurs, le profil de molécules retrouvées diffère clairement selon l'usage. Dans un contexte biocide, 5 molécules différentes sont retrouvées qui sont celles les plus vendues à l'heure actuelle en France pour la lutte biocide ; c.-à-d. la chlorophacinone, la bromadiolone, le difénacoum, le brodifacoum et la diféthialone (Liphatech, comm. pers.). La chlorophacinone est la plus retrouvée, ce qui est étonnant étant donné la tendance à une plus forte utilisation des SGARs que des FGARs. La chlorophacinone représente 5% des ventes de Liphatech en France contre 40% pour la diféthialone et 55% pour la bromadiolone. En Ecosse, 80 % des rodenticides utilisés sur les exploitations céréalières de 2000 à 2010 sont des SGARs (Hughes 2012) et en Irlande 8,5 % des agriculteurs utilisent des FGARs et 74 % des SGARs (Tosh *et al.* 2011). Le fait qu'on retrouve globalement plus de

chlorophacinone dans les individus exposés tiendrait au fait que cette molécule est la plus retrouvée dans la commune biocide où la fréquence d'individus exposés est également la plus grande. Les fréquences de molécules retrouvées dans notre étude pourraient donc refléter des particularités locales. Par ailleurs, certains individus ont été exposés à plusieurs molécules (toujours des rats et des souris). Cette pluri-contamination résulte au moins dans 4 cas sur 5 de la consommation de plusieurs types d'appâts, puisque différentes molécules sont retrouvées dans le même individu dans des concentrations équivalentes. Ce phénomène est certainement favorisé par le caractère commensal de ces espèces et donc par leur utilisation préférentielle de milieux potentiellement traités.

Dans un contexte PPP, la bromadiolone, seule molécule autorisée pour un usage en plein champs, est retrouvée dans tous les individus exposés. La diféthialone est par ailleurs parfois retrouvée dans des campagnols terrestres et campagnols des champs piégés dans des prairies ; chose étonnante puisque cette molécule est uniquement autorisée pour un usage biocide et que ces espèces ont un domaine vital réduit (notamment le Campagnol terrestre qui occupe une surface de 100 à 200 m² ; Quéré & Le Louarn 2011). Une première explication serait que la diféthialone a été utilisée en nature à proximité du lieu de capture de ces animaux dans le cadre d'un usage biocide ou d'une utilisation illégale de la diféthialone pour lutter contre le Campagnol terrestre. Cependant, cette molécule est également retrouvée dans des souris piégées dans un local de stockage des appâts bromadiolone utilisés dans la lutte contre le Campagnol terrestre d'une autre commune PPP et est toujours associée à la bromadiolone mais dans des taux plus de 70 inférieurs. Ceci laisse supposer que les appâts bromadiolone utilisés dans la lutte PPP présentaient des traces de diféthialone ; ces 2 molécules étant produites par la société qui produit ces appâts. Un tel phénomène (contamination des appâts) a été également mis en évidence dans les travaux de Tosh *et al.* (2012). Le brodifacoum était détecté en faible quantité dans des appâts utilisés sur leur zone d'étude, tous de la même marque, et dont la matière active était d'autres AVKs. Ainsi, ils détectaient le brodifacoum dans le foie de certains rongeurs, alors que cet AVK n'était pas utilisé sur les fermes adjacentes au lieu de capture. Nous n'avons pas pu, dans notre cas, analyser les appâts en question. L'usine de fabrication des appâts est cependant accréditée « bonne pratique de laboratoire », ce qui signifie que les appâts sont soumis à des contrôles stricts de qualité et la fabrication et le stockage des appâts à base de diféthialone sont spatialement séparés de ceux des appâts bromadiolone (Liphatech, comm. pers.). La question de l'origine de la diféthialone reste donc ici ouverte. Enfin, l'absence des autres molécules autorisées dans un contexte biocide dans les rongeurs ne nous permet pas de conclure à une plus faible intensité des traitements biocides dans les communes PPP (par comparaison avec les communes biocides) car les rongeurs capturés étaient essentiellement sous influence des traitements PPP (80 % des individus capturés en étaient plus proches que des traitements biocides).

D'après notre étude, la saison n'influence pas de manière prépondérante la distribution des contaminations au sein de la communauté de rongeurs. Seule une part de 5% des variations de concentrations non nulles pourrait être attribuée à une influence saisonnière. Les concentrations sont

plus élevées à l'automne, ce qui est cohérent avec la plus forte intensité des traitements, biocides (Harris *et al.* 1995 ; Tosh *et al.* 2011) ou PPP (au moins 4 fois plus intensifs qu'au printemps dans notre étude à l'échelle communale), à cette saison en raison des plus fortes densités de rongeurs. Les concentrations présentes dans les campagnols terrestres seraient en effet, d'après des expérimentations en nature, fonction des quantités utilisées sur la parcelle. Les quantités de bromadiolone dans des campagnols piégés sur une parcelle traitée à 0,5 kg/ha sont environ 5 à 50 fois plus faibles que les quantités dans les campagnols piégés sur une parcelle traitée à 20 kg/ha (Delattre & Giraudoux 2009). Cependant, les plus hautes concentrations notées à l'automne peuvent aussi relever du fait que les individus présentant les plus fortes concentrations d'AVKs (cadavres collectés à proximité des traitements et souris piégées dans le local de stockage des appâts bromadiolone PPP) ont tous été collectés à cette saison.

II.4.3. Variabilité spatiale des contaminations et mobilité des rongeurs

Dans notre étude, les variables spatiales de caractérisation des traitements ne sont retenues que dans les modèles explicatifs de l'occurrence des AVKs, que ce soit pour une espèce en particulier ou dans l'ensemble de la communauté de rongeurs, et la part de variation expliquée des modèles atteint au maximum 33% et au minimum 5%. Le faible caractère explicatif de ces variables peut s'expliquer, au moins en partie, par le fait que les variables de caractérisation des traitements (surfaces traitées autour des rongeurs et distance aux traitements) ont été calculées, dans le cadre de traitements biocides, en considérant l'ensemble des agglomérations comme des surfaces de traitements potentiels. Or, l'application des rodenticides est probablement spatialement hétérogène au sein des agglomérations (par exemple, les échanges informels avec les habitants indiquent que certains n'en utilisent pas). Par ailleurs, l'information sur les traitements PPP a été utilisée avec une résolution parcellaire. Or, sur une parcelle les traitements étaient faits à la tâche, c'est-à-dire uniquement sur les indices de Campagnol terrestre et avec des quantités d'appâts par hectare qui s'échelonnaient de 1 à 7 kg/ha. Cette hétérogénéité spatiale des traitements au sein des parcelles traitées a induit une variabilité des contaminations et cela même chez l'espèce cible. Dans notre étude, 41 % des campagnols terrestres capturés sur les parcelles traitées (au maximum 60 jours après les traitements) avaient été exposés à la bromadiolone, alors que 96 % des campagnols terrestres capturés dans les galeries d'une parcelle intégralement traitée (parcelle traitée « en plein » à 20 kg/ha) et dans les 135 jours suivant les traitements présentaient de la bromadiolone (Sage *et al.* 2008).

Cependant, malgré cette imprécision dans l'appréciation des surfaces traitées, notre étude suggère une structuration spatiale des contaminations. Ponctuellement des individus exposés étaient retrouvés loin des sources de traitement mais la plupart des individus exposés étaient retrouvés à proximité des traitements AVKs potentiels ou avérés ; 75 % des individus exposés étaient piégés à moins de 30 m des traitements. En comparant les fréquences de contamination des mulots piégés dans notre étude dans un contexte biocide avec celles mesurées par Townsend, Entwisle & Hart

(1995), Brakes & Smith (2005) et Tosh *et al.* (2012) (contexte biocide également), il semblerait que cette structuration spatiale des contaminations soit généralisable. Malgré la diversité des protocoles (saisons, mesures des contaminations, délai entre l'appâtage et la mesure des contaminations,...), il apparaît que la fréquence d'individus positifs diminue avec l'étendue spatiale de l'échantillonnage : elle s'élève à 50-70 % à proximité des traitements (Brakes & Smith 2005), à 20-30% dans un rayon de 80 m autour des traitements (Townsend, Entwisle & Hart 1995), à 15 % dans un rayon de 260 m (Tosh *et al.* 2012) et à 5,7 % dans un rayon de 1 km (notre étude). La présence ponctuelle d'individus contaminés à plusieurs centaines de mètres des traitements potentiels ou identifiés suggère 2 hypothèses non exclusives. D'abord, on ne peut pas exclure l'application d'appâts loin des villages ou des fermes isolées ; par exemple dans des vergers où les rongeurs peuvent causer d'importants dégâts (Quéré & Le Louarn 2011). Une deuxième hypothèse serait que les rongeurs aient effectué des mouvements de dispersion de longue distance entre les sites de traitement et les sites de capture, ce qui peut se produire chez les espèces concernées. Par exemple des déplacements de 400 m ont été observés chez le Campagnol des champs (Somsook & Steiner 1991), de 1.3 km chez le Mulot sylvestre (Macdonald *et al.* 2000) et de 2-3 km chez le Campagnol roussâtre (Razzauti *et al.* 2008).

La mobilité des espèces semble conditionner les probabilités de contamination des rongeurs. En effet, même si les modèles sont faiblement explicatifs de l'occurrence d'AVKs dans les différentes espèces de rongeurs prises séparément, les résultats obtenus sont cohérents avec leur mobilité. L'occurrence d'AVKs dans les campagnols roussâtres et les mulots était la mieux expliquée par la surface traitée mesurée dans les plus grandes tailles de fenêtre d'analyse testées (respectivement 400 et 500 m). Outre leurs déplacements de grande ampleur, ces espèces ont des domaines vitaux qui atteignent des surfaces de plusieurs milliers de m² (Quéré & Le Louarn 2011). *A contrario*, l'occurrence d'AVKs dans les campagnols terrestres était la mieux expliquée par la surface traitée dans la plus petite taille de fenêtre testée c.-à-d. 50m. Cette espèce a un domaine vital peu étendu et est réputée se déplacer au maximum de 30 à 60 m lors de ses mouvements de dispersion (Quéré & Le Louarn 2011). Par ailleurs, à surface traitée dans un rayon de 50 m égale, les mâles de campagnols terrestres avaient une plus grande probabilité d'être exposés à la bromadiolone que les femelles. On peut exclure un métabolisme plus rapide de la bromadiolone chez les femelles de Campagnol terrestre par rapport aux mâles puisque les concentrations de bromadiolone positives ne différaient pas entre les 2 sexes (on a même une tendance à de plus fortes concentrations dans les femelles ; comme montré par ailleurs par Sage *et al.* 2008 dans les carcasses). Cette différence des fréquences de contamination pourrait tenir à la plus grande mobilité des mâles (Quéré & Le Louarn 2011) ; qui sur des parcelles traitées à la tâche auraient ainsi plus de risque d'être exposés aux appâts. Si l'âge influence la mobilité des rongeurs et donc potentiellement leur contamination aux AVKs ; un tel lien n'a pu être montré ici. Ceci peut résulter au moins en partie de la perte de puissance statistique liée à la constitution de 2 sous-échantillons par espèce ; suivant que les cristallins avaient été congelés ou pas. Or, en lien avec l'âge, la taille des rongeurs va influencer leur chance d'être prélevés par les prédateurs. Par exemple au Canada, l'Effraie des clochers *Tyto alba* prélève des plus

petits rats que la Chouette rayée *Strix varia* et le Grand Duc d'Amérique *Bubo virginianus* (Hindmarch & Elliott 2012). L'influence de l'âge sur les contaminations des rongeurs aux AVKs mériterait donc d'être approfondie.

II.4.4. Conclusion

Nous montrons ici que l'occupation des milieux par les rongeurs (milieu de prédilection et amplitude des déplacements) conditionne leur probabilité ainsi que leurs niveaux d'exposition aux AVKs (fréquence d'exposition aux AVKs en général et nombre de molécules rencontrées). Nous pouvons ainsi avancer que 2 facteurs principaux vont conditionner le risque d'intoxication secondaire des prédateurs : l'espèce proie sélectionnée et la distance par rapport aux traitements. Le risque est maximal lorsque les prédateurs consomment les espèces ciblées par les traitements (en particulier Rat surmulot et Campagnol terrestre), ou des espèces au mode de vie similaire (Campagnol des champs), à proximité des traitements AVKs. Le contexte d'utilisation des AVKs (PPP ou biocide) conditionne en particulier le profil de molécules retrouvées ainsi que l'exposition des rongeurs prairiaux (Campagnol terrestre et Campagnol des champs). Dans un contexte de lutte PPP, où les appâts rodenticides sont enfouis dans les prairies, ces espèces sont exposées plus fréquemment et/ou à de plus hauts niveaux de concentration. Les campagnols des champs et les campagnols terrestres constituent une grande part des proies capturées par certains prédateurs, notamment le renard (Weber 1996 ; Raoul *et al.* 2010). L'usage des AVKs conditionnerait donc *a priori* le transfert des AVKs vers ces espèces prédatrices de rongeurs prairiaux. L'influence de l'usage des AVKs et du régime alimentaire des prédateurs sur leur contamination aux AVKs sera abordée dans le chapitre suivant.

II.5. Bibliographie

- Atterby, H., Kerins, G.M. & MacNicoll, A.D. (2005) Whole-carcass residues of the rodenticide difenacoum in anticoagulant-resistant and -susceptible rat strains (*Rattus norvegicus*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, **24**, 318-323.
- Becker, R.A. & Wilks, A.R. (2013) *Package mapdata. Version 2.2-2*. <http://cran.r-project.org/>
- Bivand, R. & Lewin-Koh, N. (2013) *maptools: Tools for reading and handling spatial objects. Version 0.8-23*. <http://r-forge.r-project.org/projects/maptools/>.
- Brakes, C. & Smith, R. (2005) Exposure of non-target small mammals to rodenticides: short-term effects, recovery and implications for secondary poisoning. *Journal of Applied Ecology*, **42**, 118-128.
- Burlet, P., Deplazes, P. & Hegglin, D. (2010) Efficient age determination: how freezing affects eye lens weight of the small rodent species *Arvicola terrestris*. *European Journal of Wildlife Research*, **56**, 685-688.
- Burnham, K.P. & Anderson, D.R. (2002) *Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach*, 2nd edn. Springer, Berlin.

- Commission Directive 98/8/EC (2009b) *BRODIFACOUM (PT 14). Assessment report. Finalised in the Standing Committee on Biocidal Products at its meeting on 17 September 2009 in view of its inclusion in Annex I to Directive 98/8/EC.* European Union.
- Commission Directive 98/8/EC (2009c) *FLOCOUMAFEN (PT 14). Assessment report. Finalised in the Standing Committee on Biocidal Products at its meeting on 15 May 2009 in view of its inclusion in Annex I to Directive 98/8/EC.* European Union.
- Commission Directive 98/8/EC (2007a) *DIFETHIALONE (PT 14). Assessment report. Finalised in the Standing Committee on Biocidal Products at its meeting on 21 June 2007 in view of its inclusion in Annex I to Directive 98/8/EC.* European Union.
- Delattre, P. & Giraudoux, P. (2009) Le campagnol terrestre. Prévention et contrôle des populations, Editions Quae, Versailles. Diggle, P.J. & Ribeiro Jr, P.J. (2007) *Model Based Geostatistics*, Springer, New York.
- Erickson, W. & Urban, D. (2004) *Potential Risks of Nine Rodenticides to Birds and Nontarget Mammals: A Comparative Approach*. United States Environmental Protection Agency Washington DC 20460.
- Escutenaire, S., Chalon, P., De Jaegere, F., Karelle-Bui, L., Mees, G., Brochier, B., Rozenfeld, F. & Pastoret, P.P. (2002) Behavioral, physiologic, and habitat influences on the dynamics of Puumala virus infection in bank voles (*Clethrionomys glareolus*). *Emerging Infectious Diseases*, **8**, 930-936.
- Fourel, I., Hugnet, C., Goy-Thollot, I. & Berny, P. (2010) Validation of a New Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Ion-Trap Technique for the Simultaneous Determination of Thirteen Anticoagulant Rodenticides, Drugs, or Natural Products. *Journal of Analytical Toxicology*, **34**, 95-102.
- Gauffre, B., Petit, E., Brodier, S., Bretagnolle, V. & Cosson, J.F. (2009) Sex-biased dispersal patterns depend on the spatial scale in a social rodent. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **276**, 3487-3494.
- Giraudoux, P. (1991) *Utilisation de l'espace par les hôtes du ténia multiloculaire (Echinococcus multilocularis) : conséquences épidémiologiques*. PhD thesis, Université de Bourgogne.
- Giraudoux, P. (2013) *pgirmess: Data analysis in ecology. Version 1.5.7.* <http://perso.orange.fr/giraudoux>.
- Giraudoux, P., Delattre, P., Habert, M., Quere, J.P., Deblay, S., Defaut, R., Duhamel, R., Moissenet, M.F., Salvi, D. & Truchetet, D. (1997) Population dynamics of fossorial water vole (*Arvicola terrestris shermani*): a land usage and landscape perspective. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **66**, 47-60.
- Giraudoux, P., Tremollières, C., Barbier, B., Defaut, R., Rieffel, D., Bernard, N., Lucota, E. & Berny, P. (2006) Persistence of bromadiolone anticoagulant rodenticide in *Arvicola terrestris* populations after field control. *Environmental Research*, **102**, 291-298.
- Harris, S., Morris, P., Wray, S. & Yalden, D. (1995) *A review of British mammals: population estimates and conservation status of British mammals other than cetaceans*, Joint Nature Conservation Committee, Manchester, M13 9PL.
- Hijmans, R.J. & van Etten, J. (2013) *raster: Geographic data analysis and modeling. Version 2.1-25.* <http://cran.r-project.org/web/packages/raster/>.
- Hindmarch, S. & Elliott, J. (2012) Investigating the potential risk of secondary rodenticide poisoning to urban owls inhabiting and foraging in urban landscapes of the Lower Mainland, British Columbia, Canada. In *6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting*, Berlin.
- Hughes, J. (2012) *Pesticide Usage in Scotland. Rodenticides on Arable Farms 2000 to 2010*. Scottish Government.
- Macdonald, D.W., Tew, T.E., Todd, I.A., Garner, J.P. & Johnson, P.J. (2000) Arable habitat use by wood mice (*Apodemus sylvaticus*). 3. A farm-scale experiment on the effects of crop rotation. *Journal of Zoology*, **250**, 313-320.

- Michaux, J.R., Kinet, S., Filippucci, M.G., Libois, R., Besnard, A. & Catzefflis, F. (2001) Molecular identification of three sympatric species of wood mice (*Apodemus sylvaticus*, *A.-flavicollis*, *A.-alpicola*) in western Europe (*Muridae* : *Rodentia*). *Molecular Ecology Notes*, **1**, 260-263.
- Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (2002) Arrêté ministériel du 17 décembre 2001 relatif aux conditions d'emploi de la bromadiolone pour la lutte contre le campagnol terrestre. *J.O*, n° **25 du 30 janvier 2002**, 2015-2016.
- Newton, I., Shore, R.F., Wyllie, I., Birks, J.D.S. & Dale, L. (1999) Empirical evidence of side-effects of rodenticides on some predatory bird and mammals. *Advances vertebrate pest management*. (eds. D.P. Cowand & C.J. Feare), pp. 347-367. Filander Verlag GmbH, Germany.
- Norrdahl, K. & Korpimäki, E. (1998) Does mobility or sex of voles affect risk of predation by mammalian predators?. *Ecology*, **79**, 226-232.
- Pebesma, E.J. & Bivand, R.S. (2005) Classes and methods for spatial data in R. *R News*, **5**, 9-13.
- Pettorelli, N., Coulson, T., Durant, S.M. & Gaillard, J. (2011) Predation, individual variability and vertebrate population dynamics. *Oecologia*, **167**, 305-314.
- Préfet du Doubs (2007) Arrêté n° 2007-2802-01100. Arrêté relatif à la lutte contre le Campagnol Terrestre (*Arvicola Terrestris* L.) en particulier aux conditions d'emploi de la bromadiolone dans les communes du département du Doubs. Préfecture du Doubs.
- Quantum GIS Development Team (2012) *Quantum GIS Geographic Information System*. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>.
- Quéré, J. & Le Louarn, H. (2011) *Les rongeurs de France. Faunistique et biologie.*, Edition Quae, Versailles, France.
- Quéré, J.P. & Vincent, J.P. (1989) Détermination de l'âge chez le Mulot gris par la pesée des cristallins. *Mammalia*, **53(2)**, 287-293.
- R Development Core Team (2013) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, <http://www.R-project.org>.
- Raoul, F., Deplazes, P., Rieffel, D., Lambert, J.C. & Giraudoux, P. (2010) Predator dietary response to prey density variation and consequences for cestode transmission. *Oecologia*, **164**, 129-139.
- Razzauti, M., Plyusnina, A., Henttonen, H. & Plyusnin, A. (2008) Accumulation of point mutations and reassortment of genomic RNA segments are involved in the microevolution of Puumala hantavirus in a bank vole (*Myodes glareolus*) population. *Journal of General Virology*, **89**, 1649-1660.
- Sage, M., Coeurdassier, M., Defaut, R., Gimbert, F., Berny, P. & Giraudoux, P. (2008) Kinetics of bromadiolone in rodent populations and implications for predators after field control of the water vole, *Arvicola terrestris*. *Science of the Total Environment*, **407**, 211-222.
- Siegel, S. & Castellan, N. (1988) *Non parametric statistics for the behavioral sciences*, 2nd edn. Statistics Series, McGraw-Hill International Editions, New York.
- Somsook, S. & Steiner, H.M. (1991) Zur Größe des Aktionsraumes von *Microtus arvalis* (Pallas, 1779). *Z Säugetierkd*, **56**, 200-206.
- Tosh, D.G., McDonald, R.A., Bearhop, S., Llewellyn, N.R., Montgomery, W.I. & Shore, R.F. (2012) Rodenticide exposure in wood mouse and house mouse populations on farms and potential secondary risk to predators. *Ecotoxicology*, **21**, 1325-1332.
- Tosh, D.G., Shore, R.F., Jess, S., Withers, A., Bearhop, S., Montgomery, W.I. & McDonald, R.A. (2011) User behaviour, best practice and the risks of non-target exposure associated with anticoagulant rodenticide use. *Journal of Environmental Management*, **92**, 1503-1508.
- Townsend, M.G., Entwisle, P. & Hart, A.D.M. (1995) Use of 2 halogenated biphenyls as indicators of non-target exposure during rodenticide treatments. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **54**, 526-533.
- US FDA (2001) *Guidance for Industry. Bioanalytical Method Validation*. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research. Center for Veterinary Medicine. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070107.pdf>.

- Vandenbroucke, V., Bousquet-Mélou, A., De Backer, P. & Croubels, S. (2008) Pharmacokinetics of eight anticoagulant rodenticides in mice after single oral administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **31**, 437-445.
- Vyas, N.B., Hulse, C.S. & Rice, C.P. (2012) Chlorophacinone residues in mammalian prey at a black-tailed prairie dog colony. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **31**, 2513-2516.
- Weber, J.M. (1996) Food selection by adult red foxes *Vulpes vulpes* during a water vole decline. *Wildlife biology*, **2(4)**, 283-288.
- Wood, S. (2006) *Generalized Additive Models: An Introduction with R*, 1 edn. Chapman and Hall/CRC, US.
- Wood, S. (2013) *Package gamm4. Version 0.1-6*. <http://cran.r-project.org/>
- Zuur, A.F., Ieno, E.N., Walker, N.J., Saveliev, A.A. & Smith, G.M. (2009) *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*, edn. Springer Science+Business Media LLC, New York.

III. Mesure d'exposition des renards aux AVKs à travers la recherche de résidus dans les fèces

III.1. Introduction :

L'introduction de ce chapitre synthétise des éléments présentés dans l'introduction générale du manuscrit.

Il est maintenant bien établi que les prédateurs sont largement exposés aux AVKs (Lambert *et al.* 2007 ; Albert *et al.* 2010 ; Murray 2011 ; Thomas *et al.* 2011 ; Christensen, Lassen & Elmeros 2012 ; Fisher *et al.* 2012 ; Sanchez-Barbudo, Camarero & Mateo 2012 ; Walker *et al.* 2012). Afin d'identifier les mesures à mettre en place pour diminuer leur exposition, il est désormais nécessaire de déterminer les facteurs qui la modulent c.-à-d. de caractériser le lien entre l'exposition des prédateurs, leur régime alimentaire et les schémas d'utilisation des rodenticides (organisation spatiale, intensité,...).

A l'heure actuelle, la mesure de l'exposition des prédateurs est basée sur le dosage des résidus d'AVKs dans le foie, principal organe d'accumulation de ces molécules. Cependant, il apparaît complexe de faire le lien entre ce type de mesure et un schéma donné de traitements rodenticides (Laakso, Suomalainen & Koivisto 2010). En effet, en raison de la persistance hépatique des AVKs, les résidus mesurés peuvent correspondre à des expositions ayant eu lieu à des dates et dans des lieux distincts au cours des mois précédant la mort de l'animal (Shore *et al.* 2012). Par ailleurs, l'obtention d'échantillons est dépendante des succès de tirs ou de piégeages ou, lorsque les espèces étudiées sont protégées, de la découverte de cadavres et de leur état de conservation (Sanchez-Barbudo, Camarero & Mateo 2012). La quantification des résidus dans le plasma des prédateurs est un marqueur d'une exposition plus récente (Vandenbroucke *et al.* 2008) mais l'obtention d'échantillons nécessite la capture des individus, et donc une procédure d'échantillonnage techniquement et financièrement lourde.

L'exposition des rapaces et des carnivores aux AVKs peut être également mesurée par la quantification des résidus dans leurs pelotes (rapaces) ou leurs fèces (rapaces et carnivores). Sur une zone de traitements PPP à la bromadiolone, Sage (2008) a quantifié les résidus de cette molécule dans des fèces de renard identifiées sur la base de critères morphologiques et collectées 15 à 45 jours après les traitements. 50% d'entre elles contenaient des résidus détectables. En captivité, les concentrations de bromadiolone dans les fèces de renards exposés restent détectables pendant les 26 jours qui suivent leur exposition mais elles diminuent rapidement ; leur demi-vie est de 1 à 2 jours (Sage *et al.* 2010). L'exposition mesurée dans les fèces est intégratrice d'une période de temps plus courte que dans le foie dans lequel la demi-vie d'élimination de la bromadiolone est de 28 jours chez la souris (Vandenbroucke *et al.* 2008) et de 170 à 318 jours chez le rat (Eason *et al.* 2002). La collecte de fèces apparaît ainsi comme une méthode permettant de suivre l'exposition récente des carnivores aux AVKs excrétés par voie fécale (SGARs et possiblement chlorophacinone), qui sont aussi les AVKs les plus impliqués dans les empoisonnements de la faune sauvage (Berny *et al.* 2010). L'obtention de fèces en nature n'est pas un facteur limitant, en particulier pour une espèce commune et ubiquiste comme le renard.

Cependant, les biais et l'applicabilité de la méthode de mesure d'exposition dans les fèces restent à préciser *in situ* et nous chercherons donc à répondre aux points qui suivent :

1. Les critères utilisés *in situ* pour la différenciation des fèces des différentes espèces de carnivores ne sont pas totalement fiables (Chame 2003 ; Dinkel *et al.* 2011). Des tests génétiques permettraient donc d'évaluer la possibilité de mesurer l'exposition d'une espèce en particulier en utilisant les fèces (Vaniscotte *et al.* 2011).

→ **Quelle est l'erreur dans l'identification des fèces de Renard roux ?**

2. Il reste à déterminer s'il est possible de quantifier le biais lié à la dégradation des fèces et à la persistance des AVKs qu'elles contiennent après leur excrétion en nature.

→ **L'utilisation d'un indice de fraîcheur des fèces permettrait-il d'estimer ce biais ?**

3. On ignore à l'heure actuelle s'il est possible, dans un contexte biocide, où les prédateurs sont exposés à de faibles doses, de retrouver des AVKs dans les fèces échantillonnées *in situ*.

→ **La mesure d'exposition basée sur les fèces est-elle applicable à ce contexte d'utilisation des AVKs ?**

→ **Si oui, existe-t-il un lien entre l'usage des rodenticides (biocide seul ou PPP/biocide), le régime alimentaire des renards, et la mesure d'exposition ?**

4. Dans le cadre de la lutte contre le Campagnol terrestre en Franche-Comté, les données spatiales et quantitatives sur les traitements PPP bromadiolone en plein champs peuvent être obtenues. Par ailleurs, les espèces de rongeurs proies les plus exposées à la bromadiolone sont le Campagnol terrestre et le Campagnol des champs (voir chapitre précédent) et c'est essentiellement la consommation de ces espèces proies au niveau des parcelles traitées qui va déterminer l'exposition des renards. Mais, bien que le renard consomme plus de campagnols terrestres quand les densités de cette espèce proie augmentent, il le fait à des degrés variables (Raoul *et al.* 2010).

→ **La mesure d'exposition a-t-elle un lien avec la distribution spatiale et l'intensité des traitements rodenticides PPP ainsi qu'avec l'importance de la consommation de campagnol terrestre et de campagnol des champs ?**

III.2. Matériel et méthodes

III.2.1. Secteurs, périodes d'étude et usage des rodenticides associés

III.2.1.a. Secteurs et période d'étude

L'étude a été menée en Franche-Comté (France) dans les départements du Doubs (25) et de la Haute-Saône (70) sur les secteurs décrits dans le chapitre II (§ II.2.1.).

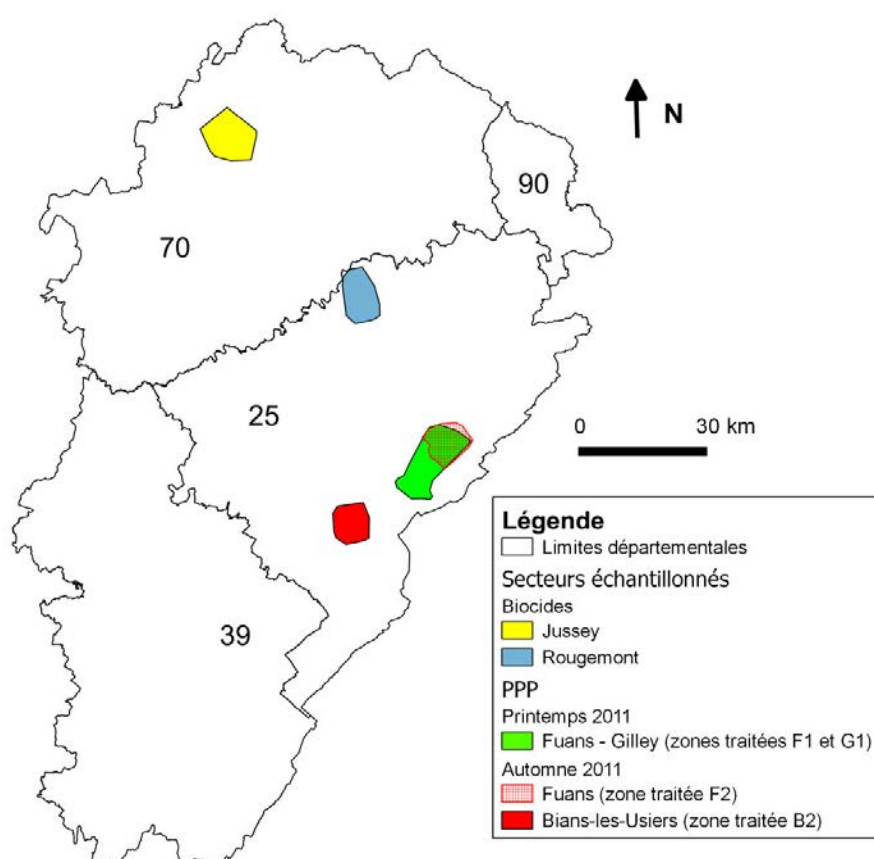


Figure 17. Localisation des secteurs de collecte de fèces en Franche-Comté. Dans les secteurs « Biocides » l'usage des AVKs est majoritairement biocide et aucune lutte contre le Campagnol terrestre n'est mise en œuvre, et dans les secteurs PPP (phytopharmaceutiques), les usages PPP et biocides co-existent. Dans la légende, le code « 1 » désigne une zone traitée au printemps et le code 2 une zone traitée en automne. Sur la carte, le département 25 est le Doubs, le 90 le Territoire de Belfort, 70 la Haute-Saône et 39 le Jura.

Deux secteurs biocides ont été échantillonnés au printemps et à l'automne 2011 : 1 en Haute-Saône (secteur de Jussey, 110 km²) et 1 dans le Doubs (secteur de Rougemont, 86 km²) (Figure 17). Les secteurs PPP étaient situés dans la zone de pullulation du Campagnol terrestre (plateaux du Jura) dans le Doubs et ont été choisis en fonction de la localisation des traitements bromadiolone en plein champ à une saison donnée. La taille du domaine vital du Renard roux atteint rarement plus de 3 km² dans des zones rurales comparables à celles échantillonnées ici (Artois 1989 ;

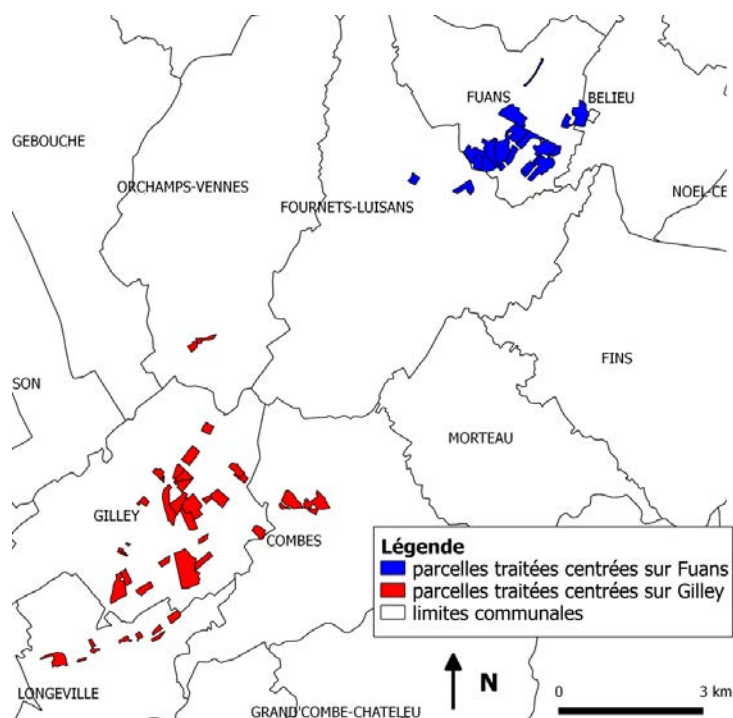


Figure 18. Parcelles traitées à la bromadiolone au printemps 2011 dans et aux environs des communes de Fuans (zone traitée F1) ou de Gilley (zone traitée G1).

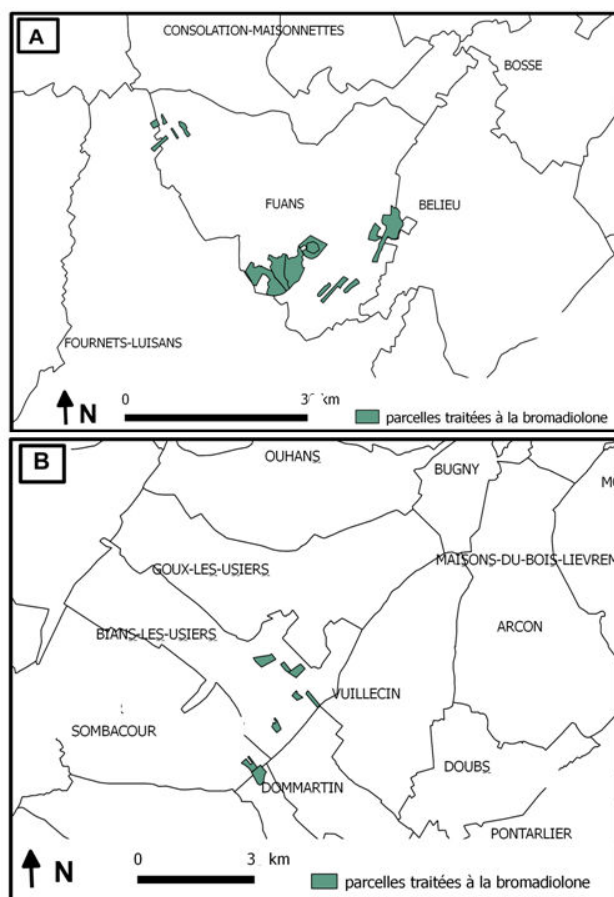


Figure 19. Parcelles traitées à l'automne 2011 A/ dans et aux environs de la commune de Fuans (zone traitée F2) et B/ dans et aux environs de la commune de Bians-les-Usiers (zone traitée B2).

Henry, Poulle & Roeder 2005). La collecte des fèces s'est donc faite dans un rayon d'environ 3 km autour des parcelles traitées à la bromadiolone, ce qui correspond à l'échelle de déplacement des renards. Au printemps 2011, l'échantillonnage s'est fait dans un seul secteur (Fuans-Gilley) de 115 km² (Figure 17), comprenant 2 zones traitées situées à environ 5 km de distance et centrées sur les communes de Fuans (zone traitée F1) et de Gilley (zone traitée G1) (Figure 18). A l'automne, la collecte des fèces s'est faite sur 2 secteurs éloignés d'environ 20 km ; autour de 2 zones traitées centrées sur la commune de Fuans d'une part (zone traitée F2, secteur de 52 km²) et sur le plateau de Pissenavache à Bians-les-Usiers d'autre part (zone traitée B2, secteur de 31 km²) (Figure 17 et 19).

III.2.1.b. Traitements rodenticides PPP : intensité et chronologie par rapport à la collecte des fèces de renard

Seuls les traitements AVKs PPP ont été géolocalisés et quantifiés. Au printemps et à l'automne 2011, les informations concernant l'emplacement des parcelles traitées, les surfaces traitées et les quantités d'appâts distribuées ont été collectées auprès des agriculteurs puis validées *a posteriori* à l'aide du fichier de déclaration des traitements (gestion FREDON/DRAAF Franche-Comté). Les traitements ont été cartographiés sur l'ensemble des communes sur lesquelles les fèces ont été collectées, ainsi que sur les communes adjacentes aux communes de collecte. Les quantités d'appâts totales utilisées sur les secteurs sont proches (facteur maximal de 1,3 entre les quantités de B2 et G1) mais les surfaces totales sont plus contrastées entre les secteurs (facteur maximal de 4,5 entre les surfaces de B2 et G1). Au printemps, les traitements ont eu lieu sur une plus grande surface dans le secteur G1 que dans le secteur F1, mais avec des quantités totales d'appâts proches (respectivement 521 et 558 kg) (Tableau 15). À l'automne de plus grandes quantités d'appâts ont été utilisées sur des surfaces plus restreintes (Tableau 15). L'intensité des traitements à l'échelle parcellaire allait de 0,8 à 14,5 kg/ka toutes saisons et secteurs confondus.

Tableau 15. Surface traitée, quantité d'appâts délivrée et quantité d'appâts délivrée par hectare traité pour chaque zone traitée comprise dans les secteurs PPP où ont eu lieu les collectes de fèces.

Zone traitée	Surface traitée (ha)	Quantité d'appâts utilisée (kg)	Quantité d'appâts par surface traitée (kg/ha)
F1	146	558	3,8
G1	221	521	2,4
F2	127	667	5,3
B2	49	569	11,6

En secteur PPP, les durées de collecte des fèces de renard étaient par ordre décroissant de 21 jours pour le secteur Fuans-Gilley au printemps, et à l'automne de 5 jours pour le secteur de Fuans et 4 jours pour le secteur de Bians-les-Usiers. Dans tous les cas, au moins 75 % des traitements PPP (en termes de surface traitée) avaient été réalisés 5 jours avant le début des collectes. Les traitements ont débuté entre 26 (Fuans) et 46 jours (Bians-les-Usiers) avant le début de la collecte. En secteur biocide, la collecte des fèces s'est étalée sur 2 mois au printemps et 1 mois à l'automne pour le secteur de Rougemont, et sur 3 semaines au printemps et 4 jours à l'automne pour le secteur de Jussey.

III.2.2. Mesure de l'exposition des renards via les fèces

III.2.2.a. Échantillonnage des fèces et sélection pour les analyses

Les fèces ont été collectées principalement en paysage ouvert le long des routes et chemins (itinéraires parcourus une seule fois) en privilégiant les voies les moins fréquentées (Figure 20). Chaque fèces collectée a été géoréférencée. Sa fraîcheur a été estimée sur la base de son degré d'humidité et de son aspect plus ou moins délité ; un code a été attribué de 1 (fraîche) à 5 (ancienne). Les fèces ont été collectées dans des sacs plastiques zippés (Figure 20) et stockées à -80°C pendant une semaine (décontamination pour *Echinococcus multilocularis* ; Eckert *et al.* 2001) puis à -20°C.



Figure 20. Collecte des fèces ; type de chemins parcourus, fèces de « type renard » et ramassage.

Au printemps et à l'automne 2010, les fèces ont été sélectionnées pour analyse sur la base de leur fraîcheur, de leur répartition géographique et en conservant uniquement les fèces considérées par l'observateur comme étant des fèces de renard (et non celles d'autres carnivores). Pour chaque type d'usage des rodenticides et chaque saison, 80 fèces ont été sélectionnées pour dosage des AVKs : soit 40 fèces par secteur sauf pour le secteur « Fuans-Gilley » pour lequel 80 fèces ont été sélectionnées. Les fèces estimées comme étant les plus fraîches ont été privilégiées (c.-à-d. que les fèces de fraîcheur 5 n'ont jamais été retenues) tout en optimisant la répartition géographique

homogène des fèces (exemple pour le secteur de Rougemont ; Figure 21). L'analyse du régime alimentaire a été faite à partir de 30 fèces sélectionnées par secteur et par saison (Figure 21), sauf pour le secteur Fuans-Gilley pour lequel 60 fèces ont été sélectionnées.

Des analyses génétiques ont été réalisées au laboratoire de parasitologie de l'université d'Hohenheim (Allemagne) sur l'ensemble des fèces analysées (dosage des AVKs ou régime alimentaire) afin de déterminer à quelles espèces appartenaient les fèces collectées. La technique utilisée (*real time multiplex-nested PCR* ; Dinkel *et al.* 2011) permet de déterminer si les fèces étaient celles de Renard roux *Vulpes vulpes*, de Chien domestique ou Loup gris *Canis lupus / familiaris*, de Chat domestique ou forestier *Felis silvestris*, de Fouine *Martes foina*, ou de Martre des pins *Martes martes*. Pour les fèces d'automne, la technique a été développée afin d'inclure le Blaireau européen *Meles meles* parmi les espèces identifiables. Sur les secteurs échantillonnés, les fèces identifiées comme étant des fèces de *Canis lupus / familiaris* sont considérées comme des fèces de chien en raison de la très grande rareté du loup, si ce n'est son absence, dans ces secteurs. Ces taxons (ayant produit les fèces récoltées et pouvant être différenciés par analyse génétique) seront nommés taxons « excréteurs » par la suite. Environ 2-3 g de chaque fèces ont été prélevés spécifiquement pour ces analyses (ce qui représentait au plus la moitié de la fèces).

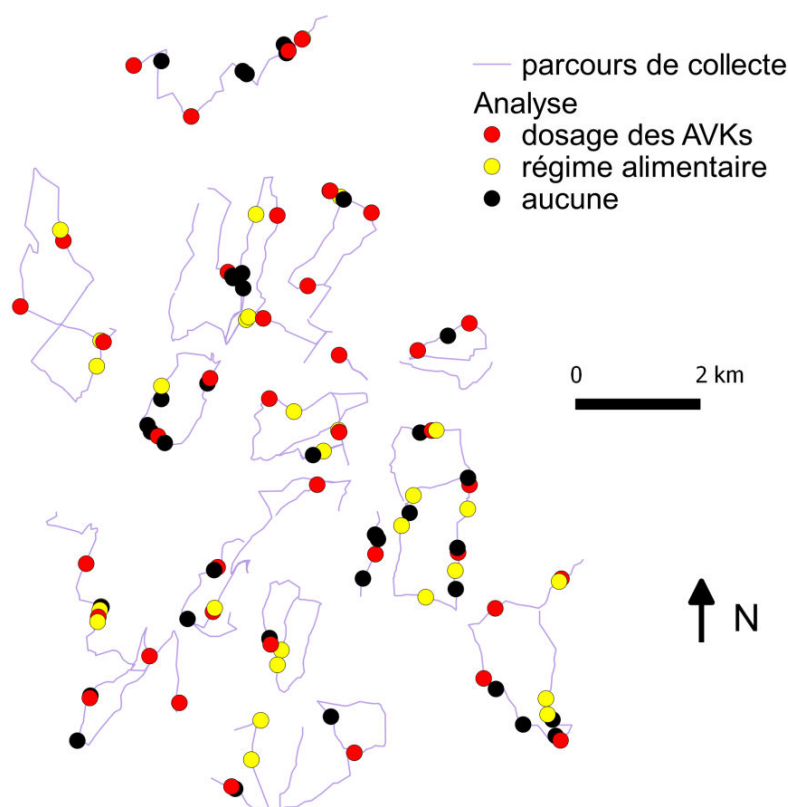


Figure 21. Répartition spatiale des fèces sélectionnées pour analyse – exemple du secteur de Rougemont au printemps.

III.2.2.b. Dosages des anticoagulants :

Tous les AVKs autorisés en Europe pour un usage biocide ou PPP ont été recherchés dans les fèces soit 8 molécules : le brodifacoum, la bromadiolone, la chlorophacinone, le coumatène, le coumatétralyl, le difénacoum, la diféthialone et le flocoumatène. La méthode a été adaptée du dosage de la bromadiolone dans les fèces (Sage *et al.* 2010) et de l'analyse multi-résidus des AVKs dans le plasma (Fourel *et al.* 2010).

Tous les produits chimiques, réactifs et solvants étaient de qualité analytique. L'acétone et l'acétonitrile (CHROMASOLV pour HPLC) ont été fournis par Sodipro (Echirolles, France) et l'acétate d'ammonium (MS grade) par Fluka (Steinheim am Albuck, Allemagne). Le méthanol, utilisé pour les solutions standards, a été fourni par Merck (Darmstadt, Germany). L'eau ultra-pure utilisée pour les solutions standards était produite par un système de purification d'eau Mili-Q Plus (Milipore). Les poudres d'AVKs utilisées pour la préparation des solutions standards ont été fournies par Sigma-Aldrich (Saint-Louis, MO) pour le coumatène, le coumatétralyl, la bromadiolone, le difénacoum, le flocoumatène, le brodifacoum et le dicoumarol (utilisé comme étalon interne) et par Liphatech (Pont du Casse, France) pour la chlorophacinone et la diféthialone.

Les échantillons ont été tout d'abord broyés encore congelés à l'aide de Hachoirs MAGIMIX 12243 MICRO, ceci afin d'obtenir un mélange homogène. Les fèces ont été ensuite séchées à l'étuve durant 48 heures à 50°C. Les dosages étaient en effet réalisés à partir de la matière sèche et les concentrations d'AVKs étaient donc exprimées en mg de chaque AVKs par kg de matière sèche (M.S.) ; ceci afin de pouvoir comparer les concentrations d'AVKs en s'affranchissant des effets d'une humidité variable entre les fèces. Pour chaque échantillon, un aliquote de 0,5±0,05g (M.S.) a été placé dans un tube en polypropylène de 50 ml. Les tubes ont ensuite été stockés à l'obscurité à -20°C.

L'extraction était réalisée juste avant le dosage. Dans chaque tube-échantillon, 100 µl d'une solution à 1 mg/L de dicoumarol étaient ajoutés ainsi que 10 ml d'acétone. Après une heure de repos dans l'acétone sans agitation, les échantillons étaient agités pendant 10 min dans un rotator PTR-60 (séquence définie : orbital(rpm) 60/4, reciprocal(deg.) 30°/05, Vibro/pause 5°/5, Time(hr:min) 0:10), ceci afin de faciliter l'extraction des AVKs. Les échantillons étaient ensuite centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 min. Un volume de 4 ml du surnageant était précautionneusement transvasé dans des tubes à essais et l'acétone était évaporé à 40°C sous flux d'azote. L'extrait sec obtenu était repris dans 200 µl d'acétonitrile et les AVKs étaient solubilisés dans l'acétonitrile par agitation pendant 10 s sur un Vortex (MS2 Minishaker IKA-WERK, Staufen, Germany), passage aux ultrasons pendant 5 min et enfin nouvelle agitation au Vortex de 10 s. Les éléments lipidiques étaient dissociés en plaçant les tubes au congélateur durant 10 min. Le surnageant était ensuite filtré au moyen d'une seringue équipée d'un filtre de 0,2 µm (Phenomenex). Le filtrat obtenu était analysé par LC-MS/MS avec une chaîne HPLC 1200 et un spectromètre de masse 6410 Triple Quad (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, Etats-Unis) équipé d'une interface d'ionisation par électrobulbion (*Electro Spray Ionisation* ESI) et contrôlé par le logiciel Mass Hunter (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, Etats-Unis). La séparation chromatographique a été réalisée en utilisant une colonne Kinetex C18

(2,1*100mm ; 2,6µm) et une pré-colonne Security Guard Ultra Cartridge UHPLC 18 ; 2,1mmID Column, toutes 2 fournies par Phenomenex. La phase mobile était constituée de 2 solvants : A acétate d'ammonium à 10 mM et B acétonitrile. Le gradient d'élution de la phase mobile était le suivant : 70% A : 30% B (proportions en volume) à 0 min, 40% de B à 0,1 min ; 90% de B à 10 min et cela jusqu'à 11 min et enfin 30% de B à 12 min. La durée totale d'analyse était de 22 min. Les colonnes et pré-colonnes étaient à température ambiante. Le débit était de 0,25 ml/min. Le volume d'injection était de 1 µL.

La détection était faite par MS/MS avec l'ESI en mode négatif. La pression du nébuliseur était fixée à 40 psi, sa température sèche à 350°C et le débit de gaz sec à 8l/min. Le voltage du capillaire était fixé à 4000 V.

Les concentrations des résidus d'AVKs ont été quantifiées via les courbes de calibration réalisées à partir de fèces blanches supplémentées avec les solutions standards. Les concentrations les plus basses des courbes de calibration correspondaient aux limites de quantification (LOQ) ; elles ont été calculées de façon à avoir une réponse pour la LOQ égale au moins à 5 fois la réponse des blancs, avec une justesse comprise entre 80-120% et une répétabilité dont le coefficient de variation était inférieur à 20% (US FDA 2001). Les LOQ étaient de 0,5 µg/kg pour le coumafène, la bromadiolone et le flocoumafène, de 2 µg/kg pour le coumatétralyl et la diféthialone et enfin de 10 µg/kg pour le brodifacoum, la chlorophacinone et le difénacoum. Les concentrations les plus hautes des courbes de calibration étaient, pour tous les AVKs, de 200 µg/kg. La limite de détection (LOD) était égale à 3 fois la valeur du bruit de fond (US FDA 2001) soit 0,3 µg/kg pour le coumafène, la bromadiolone et le flocoumafène ; 1,2 µg/kg pour le coumatétralyl et la diféthialone et enfin 6 µg/kg pour le brodifacoum, la chlorophacinone et le difénacoum. Tous les 12 échantillons, une injection d'une solution standard contenant les 8 AVKs recherchés et le dicoumarol était faite pour contrôler le maintien des conditions de détection (notamment celui des temps de rétention). Cette injection était suivie de 2 injections d'acétonitrile pour contrôler l'absence de contamination résiduelle dans la colonne et la pré-colonne. Des échantillons supplémentés ont par ailleurs été analysés pour contrôler le maintien des conditions de quantification dans les fèces.

III.2.2.c. Détermination des rongeurs consommés par étude des macrorestes dans les fèces

Les fèces ont été décontaminées par autoclavage en atmosphère humide à 180 °C durant 30 min et placées pendant 24 h dans un pot contenant de l'eau. L'échantillon a été filtré sur un tamis de 500 µm de vide de maille puis rincé sous un filet d'eau pour isoler les restes macroscopiques non digérés. L'identification des micromammifères a été faite par examen des dents (Quéré & Le Louarn 2011). Les rongeurs du genre *Microtus* (*Microtus arvalis*, *Microtus agrestis* et *Microtus subterraneus*) ne pouvaient pas toujours être différenciés en raison de la qualité et de la quantité variable de dents et d'os restants. Ils ont ainsi été regroupés dans la catégorie *Microtus sp.* Le Campagnol des champs *Microtus arvalis*, est une espèce de prairie et a dans ce milieu des densités de populations beaucoup plus élevées que celles des 2 autres espèces (Giraudoux *et al.* 1994). Cette espèce est donc plus

susceptible d'être consommée par le renard qui chasse essentiellement en milieu ouvert (Giraudoux 1991 ; Giraudoux *et al.* 2002 ; Raoul *et al.* 2010). Les Mulots *Apodemus sylvaticus*, *Apodemus flavicollis* et la Souris domestique *Mus musculus domesticus* ont été regroupés sous l'appellation *Murinae sp.* Les différentes catégories utilisées dans le cadre de cette étude étaient donc : *Microtus sp.*, *Arvicola terrestris*, *Murinae sp.*, *Myodes glareolus*. Chacune de ces catégories a été renseignée pour chacune des fèces en termes de présence/ absence (Raoul *et al.* 2010).

III.2.2.d. Analyses statistiques

Caractérisation des biais. Les fréquences des taxons excréteurs identifiés (renard, chat, chien/marte) parmi les fèces dont l'ADN a pu être amplifié ont été comparées entre les usages des rodenticides (PPP ou biocide) en utilisant le test du Chi-2. Ce même test a été utilisé pour comparer les fréquences d'occurrence de fèces dans lesquelles au moins un AVK a été détecté ou quantifié (appelées « fèces positives » par la suite) en zone PPP : 1/ en fonction des taxons excréteurs des fèces selon les catégories suivantes : renard, autres espèces (regroupées pour satisfaire aux règles de Cochran ; Cochran 1954), espèce indéterminée, 2/ en fonction des indices de fraîcheur estimés sur le terrain quel que soit le taxon excréteur. Le test du Chi-2 a été enfin utilisé pour comparer la fréquence d'occurrence du Campagnol terrestre ou de *Microtus sp* en fonction du taxon excréteur selon les catégories « renard », « autres espèces » et « espèce indéterminée ». Les restes de *Murinae sp* et de *Myodes glareolus* étaient trop peu retrouvés pour comparer la fréquence de fèces les contenant entre les catégories taxonomiques.

Comparaison des fréquences de fèces positives et du régime alimentaire entre les 2 contextes d'usage des AVKs. Un test du Chi-2 a été utilisé pour comparer selon l'usage des rodenticides (PPP ou biocide) : 1/ les fréquences de fèces positives toutes catégories taxonomiques confondues, 2/ et les fréquences d'occurrence d'*A. terrestris* et de *Microtus sp*, pour 2 catégories taxonomiques « renard » ou « espèce indéterminée ». Le test des probabilités exactes de Fisher a été utilisé pour comparer, selon l'usage des rodenticides, les fréquences d'occurrence d'*A. terrestris* et de *Microtus sp* dans les fèces de chat.

Lien entre la présence de bromadiolone dans les fèces, les traitements rodenticides PPP et la consommation de campagnols terrestres et de campagnols des champs. Des modèles linéaires généralisés (GLM) binomiaux et des modèles additifs généralisés (GAM) binomiaux (pour prendre en compte la possible non linéarité de la réponse sur le prédicteur linéaire incluant les variables explicatives), visant à expliquer la présence ou l'absence de bromadiolone dans les fèces collectées en secteurs PPP ont été construits en incluant les variables explicatives décrites ci-après. Pour les GAM, l'estimation du degré de lissage des termes du modèle a été faite de façon automatique par une procédure optimisant le score GCV. La méthode de lissage utilisée était la méthode de *Spline* en Plaque Mince. Les GAM et les GLM ne permettent pas d'inclure des variables explicatives fortement voire modérément colinéaires, la colinéarité des variables explicatives numériques a été testée à l'aide de tests de corrélation de Pearson (Zuur *et al.* 2009). Les GAM et

GLM incluant les différentes combinaisons des variables citées ci-après (sauf les combinaisons de variables colinéaires) ont été comparés en utilisant le critère d'information d'Akaike corrigé (AICc) comme décrit par Burnham & Anderson (2002). Quand la différence entre l'AICc de 2 modèles était inférieure à 2, le principe de parcimonie a été appliqué et le modèle contenant le moins de variables a été retenu. L'autocorrélation spatiale résiduelle a été contrôlée par tracé d'un variogramme des résidus et d'une enveloppe variographique correspondant à 9999 permutations des valeurs des points de mesure au hasard (Diggle & Ribeiro Jr 2007).

Variables de caractérisation des traitements bromadiolone PPP. Les modèles incluait des variables caractérisant les traitements à la bromadiolone dans l'environnement relativement à chaque fèces. Pour chaque fèces, la distance à la parcelle traitée la plus proche a été calculée en mètres (variable *dist*). Dans des fenêtres circulaires centrées sur chaque fèces de 500, 1000, 1500, 2000, 2500 et 3000 m de rayon, la surface traitée a été calculée en km² (variables *surf500*, *surf1000*, *surf1500*, *surf2000*, *surf2500*, *surf3000*). Par ailleurs, pour tenir compte de la quantité d'appâts distribués dans la fenêtre d'analyse, les parcelles traitées ont été pixélisées (résolution de 10 m) et une valeur égale à la quantité d'appâts utilisée sur cette surface (calculée à partir des données parcellaires) a été attribuée à chaque pixel. Dans des fenêtres circulaires centrées sur chaque fèces (500 à 3000 m de rayon), la somme des valeurs des pixels a été calculée (variables *surfP500*, *surfP1000*, *surfP1500*, *surfP2000*, *surfP2500*, *surfP3000*).

La variable « *zone traitée* ». Quatre modalités - F1, G1, F2, B2 (Figure 17) - ont été retenues pour caractériser l'influence globale d'une zone traitée (quantités d'appâts totales distribuées et surfaces totales traitées sur la zone, disposition spatiale des parcelles traitées de la zone,...) sur la présence de bromadiolone dans les fèces. Pour le secteur « Fuans-Gilley », qui comprend 2 zones traitées (Figure 18) une fèces était considérée sous influence de la zone traitée dont elle était la plus proche.

Variables de caractérisation de la consommation de campagnol terrestre et de campagnol des champs. Aux coordonnées de chaque fèces dosée, une valeur a été interpolée en intégrant l'ensemble des données de présence/absence de Campagnol terrestre dans les « fèces régime » du secteur pondérées par l'inverse du carré de la distance entre chaque « fèces régime » et chaque fèces dosée considérée. Cette variable est appelée « *A. terrestris* ». Le même calcul a été effectué avec les données de présence/absence de *Microtus* (variable « *Microtus* »).

Les cartes ont été réalisées avec le logiciel QGIS-GRASS version 1.7.4 (Quantum GIS Development Team 2012). Les analyses statistiques et les graphiques ont été réalisés avec le logiciel R version 3.0.0 (2013-04-03) (R Development Core Team 2013) et ses packages geoR version 1.7-4 (Diggle & Ribeiro Jr 2007), gstat version 1.0-16 (Pebesma & Bivand 2005), maptools version 0.8-23 (Bivand & Lewin-Koh 2013), mgcv version 1.7-22 (Wood 2006), pgirmess version 1.5-7 (Giraudeau 2013) et raster version 2.1-25 (Hijmans & van Etten 2013).

III.3. Résultats

III.3.1. Caractérisation des biais

Spécificité du matériel. Selon les communes et la saison, l'ADN de 50 à 85 % des fèces analysées n'a pu être amplifié soit parce que l'ADN était trop dégradé ou soit parce que des inhibiteurs d'amplification étaient présents dans l'échantillon. Dans un seul cas (secteur de Fuans, fèces dosées collectées en automne), les fèces amplifiées étaient majoritairement des fèces de chat (61 % des fèces amplifiées) et secondairement de renard (33% des fèces amplifiées) (Tableau 16). Dans tous les autres cas, les fèces dont l'ADN a pu être amplifié étaient majoritairement des fèces de renard (50 à 93 % des fèces), secondairement des fèces de chat (7 à 38 % des fèces), et plus occasionnellement celles de chien (0 à 17 % des fèces) ou de martre (0 à 7% des fèces) (Tableau 16). Les résultats des tests génétiques pouvaient différer suivant le sous-échantillon de fèces (dosage ou régime alimentaire) considéré sur un même secteur à la même saison ; à Fuans à l'automne 33% des fèces dosées dont l'ADN a pu être amplifié étaient des fèces de renard contre 79% pour les fèces utilisées pour l'analyse du régime alimentaire. Globalement, les fèces amplifiées étaient principalement des fèces de renard (77,6 % des 210 fèces amplifiées, Tableau 16).

Les fréquences des taxons identifiés (renards, chats et autres espèces) ne différaient pas entre les usages (test du Chi-2 ; $p=0,55$). En zone PPP, les fréquences de fèces contenant de la bromadiolone ne différaient pas entre les fèces dont l'espèce n'a pu être identifiée, les fèces de renard et celles d'autres espèces identifiées (test du Chi-2, $p=0,35$). Un seul modèle a donc été construit par la suite pour expliquer la contamination des fèces à la bromadiolone sans distinction d'espèces. En zone PPP, la fréquence de fèces contenant des restes d'*Arvicola terrestris* différait significativement entre les fèces dont l'ADN n'a pu être amplifié, les fèces de renard et les fèces d'autres espèces (test du Chi-2, $p<0,01$), tout comme les fréquences de fèces contenant des restes de *Microtus sp* (test du Chi-2, $p<0,05$). Les données de régime alimentaire ont donc été analysées par taxon excréteur.

Lien entre l'indice de fraîcheur estimé sur le terrain et la détection de la bromadiolone dans les fèces des zones PPP. La fréquence de fèces positives ne différait pas significativement entre les indices de fraîcheur (test du Chi-2, $p=0,06$) mais la probabilité obtenue était proche du seuil de significativité de 0,05 et on tendait à une plus grande fréquence de fèces positives pour les fèces de fraîcheur 2 (Figure 22). Cela nous indique que l'utilisation de ce seul indice de fraîcheur ne nous permet pas d'estimer un éventuel biais lié à la persistance de la bromadiolone dans les fèces après leur excrétion car, sous cette hypothèse, une diminution des fréquences de fèces positives avec l'augmentation de l'indice de fraîcheur aurait dû être observée. L'indice de fraîcheur n'a donc pas été inclus dans le modèle construit par la suite pour expliquer la contamination des fèces à la bromadiolone.

Tableau 16. Résultats par secteur des analyses génétiques sur les fèces collectées au printemps (P) et à l'automne (A) 2010 et utilisées pour le dosage des AVKs ou les analyses de régime alimentaire.

	Secteur	Saison	% de fèces dont l'ADN est amplifié	% de chaque espèce parmi les fèces amplifiées			
				<i>Vulpes vulpes</i>	<i>Canis familiaris/Canis lupus</i>	<i>Felis silvestris</i>	<i>Martes martes</i>
Dosage AVKs	Jussey	P	47,5	84,2 (n=16)	5,3 (n=1)	10,5 (n=2)	0
		A	35,0	71,4 (n=10)	0	28,6 (n=4)	0
	Rougemont	P	15,0	50,0 (n=3)	16,7 (n=1)	33,3 (n=2)	0
		A	22,5	77,8 (n=7)	0	22,2 (n=2)	0
	Fuans-Gilley	P	48,8	87,2 (n=34)	5,1 (n=2)	7,7 (n=3)	0
	Fuans	A	45,0	33,3 (n=6)	5,6 (n=1)	61,1 (n=11)	0
	Bians-les-Usiers	A	35,0	85,7 (n=12)	0	14,3 (n=2)	0
Régime alimentaire	Jussey	P	46,7	78,6 (n=11)	0	14,3 (n=2)	7,1 (n=1)
		A	26,7	62,5 (n=5)	0	37,5 (n=3)	0
	Rougemont	P	30,0	66,7 (n=6)	11,1 (n=1)	22,2 (n=2)	0
		A	16,7	80,0 (n=4)	0	20,0 (n=1)	0
	Fuans-Gilley	P	50,0	93,3 (n=28)	0	6,7 (n=2)	0
	Fuans	A	46,7	78,6 (n=11)	7,1 (n=1)	14,3 (n=2)	0
	Bians-les-Usiers	A	36,7	90,1 (n=10)	0	9,1 (n=1)	0
Total			37,5	77,6 (n=163)	3,3 (n=7)	18,6 (n=39)	0,5 (n=1)

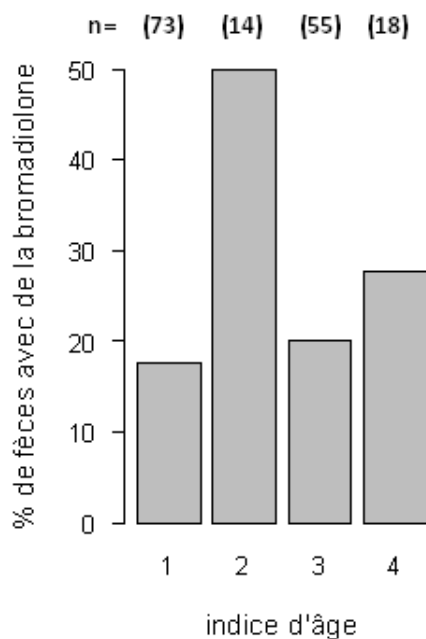


Figure 22. Fréquence de fèces contenant de la bromadiolone en fonction de l'indice de fraîcheur estimé sur le terrain. Les effectifs de fèces par indice d'âge sont indiqués au-dessus des barres (n).

III.3.2. Exposition et régime alimentaire en fonction de l'usage des rodenticides

Exposition. Toutes les concentrations détectées étaient supérieures à la limite de quantification. Seules 2 fèces contenaient des AVKs détectables en secteurs biocides (les 2 ont été collectées dans le secteur de Rougemont au printemps). L'une, collectée à proximité d'un village, était une fèces de chien et contenait de la bromadiolone (1,5 µg/kg). L'autre était une fèces collectée à plus d'1,5 km de villages, dont l'espèce n'a pu être identifiée, et qui contenait 47,4 µg de chlorophacinone/kg. La fréquence de fèces positives était significativement plus élevée en secteurs PPP qu'en secteurs biocides (test du Chi-2, $p < 0,001$). Dans les secteurs PPP où la bromadiolone était utilisée en plein champ contre le Campagnol terrestre, seule cette molécule a été retrouvée dans 22,5% des fèces analysées. À titre indicatif, la médiane des concentrations positives était de 11,2 µg/kg et la concentration maximale retrouvée est de 593,1 µg/kg. Parmi les fèces contenant de la bromadiolone, 15 étaient des fèces de renard, 4 des fèces de chat et 17 étaient d'origine indéterminée.

Régime alimentaire. En zone biocide, les campagnols du genre *Microtus* n'étaient pas significativement plus retrouvés qu'en secteurs PPP dans les fèces de renard (test du Chi-2, $p = 0,46$) et les fèces d'espèce indéterminée (test du Chi-2, $p = 0,46$) (Tableau 17). Le Campagnol terrestre, espèce ciblée par les traitements PPP bromadiolone, n'a pas été significativement plus retrouvé en secteurs PPP qu'en secteurs biocides dans les fèces de renard (test du Chi-2, $p = 0,09$) et dans les fèces d'espèce indéterminée (test du Chi-2, $p = 0,13$) (Tableau 17). Des restes de campagnols terrestres (*A. terrestris*) et de campagnols du genre *Microtus* ont été retrouvés dans les fèces de chat dans les 2 contextes d'usage des AVKs et cela dans des proportions similaires entre les usages (test des probabilités exactes de Fisher, $p = 1$) (Tableau 17). Des restes de *Murinae* sp et de campagnols roussâtres (*M. glareolus*) ont été retrouvés uniquement en secteurs biocides (dans 4 fèces d'origine indéterminée et 1 fèces de chat pour les *Murinae* et dans 2 fèces d'origine indéterminée et 1 fèces de chat pour *M. glareolus*) (Tableau 17). Les restes de *Murinae* étaient toujours des restes de Mulots sp *Apodemus* sp ou de Souris domestique *Mus musculus domesticus* mais jamais ceux de Rat surmulot *Rattus norvegicus*. Certains restes de *Murinae* ont pu être identifiés plus précisément : 1 fèces contenait des molaires de Mulots sp et une autre fèces contenait des molaires de Souris domestique.

III.3.3. Lien spatial et quantitatif entre la présence de bromadiolone dans les fèces, les traitements rodenticides PPP et le régime alimentaire

Les variables numériques de caractérisation des traitements étaient toutes corrélées 2 à 2 et parfois très fortement (test de corrélation de Pearson, $p < 0,001$; et $0,3 < |r| < 0,97$), les GAMs comparés n'intégraient donc qu'une seule de ces variables par modèle. Les corrélations entre les variables numériques de caractérisation des traitements et les variables *A. terrestris* et *Microtus* n'étaient pas toujours significatives et les coefficients de corrélation étaient plus faibles (r maximum de 0,48 entre *surf3000* et *A. terrestris*). Ces 2 variables ont donc été associées aux variables numériques de caractérisation des traitements dans les GAMs.

Dans tous les cas, les modèles GAM avaient un AICc plus faible que leur équivalent GLM, indiquant une non-linéarité de la réponse (présence/absence de bromadiolone) en fonction du prédicteur linéaire (Tableau 19). L'occurrence de bromadiolone dans les fèces était la mieux expliquée par la surface traitée dans un rayon de 1000 m autour du point de collecte et par une relation lissée ; le modèle dont l'AICc était le plus faible était le GAM qui incluait uniquement la variable *surf1000* (AICc = 104,1) (Tableau 19). La surface traitée dans un rayon de 1000 m expliquait nettement mieux l'occurrence de bromadiolone dans les fèces que les autres variables utilisées ; le GAM monovarié dont l'AICc était le plus faible était ensuite celui incluant la variable *dist* et l'écart des AICc de ces 2 modèles était de plus de 10 unités (Tableau 18).

La surface traitée dans un rayon de 1000 m autour des fèces permettait à elle seule d'expliquer 43,2 % de la déviance du modèle. La probabilité d'occurrence de la bromadiolone augmentait d'abord rapidement et de façon exponentielle : elle passait de 0 à 80 % pour des surf1000 allant de 0 à 0,45 km² (Figure 23). Ensuite la probabilité d'occurrence augmentait plus lentement et de façon linéaire avec l'augmentation de surf1000 et atteignait 93 % pour une surf1000 de 0,85 km² (Figure 23). La consommation de Campagnol terrestre et de Campagnol des champs expliquait moins bien la contamination des fèces que les variables de caractérisation des traitements à la bromadiolone ; parmi les modèles monovariés ceux incluant *A. terrestris* ou *Microtus* avaient les AIC les plus élevés (Tableaux 18 et 19).

Tableau 17. Fréquence d'occurrence des restes de chaque taxon de rongeurs dans les fèces de chaque espèce de carnivore. (résultats des tests génétiques) et pour chaque usage des rodenticides. Le nombre de fèces correspondant est donné entre parenthèses.

Taxon de rongeurs	Usage	Espèce carnivore				
		Indéterminée	<i>Vulpes vulpes</i>	<i>Canis lupus / familiaris</i>	<i>Felis silvestris</i>	<i>Martes martes</i>
<i>A. terrestris</i>	Biocide	9,5 (8)	23,1 (2)	0	37,5 (3)	0
	PPP	19,4 (13)	45,8 (22)	0	20 (1)	0
<i>Microtus sp</i>	Biocide	22,6 (19)	38,5 (10)	0	62,5 (5)	0
	PPP	16,4 (11)	27,1 (13)	0	80 (4)	0
<i>Murinae sp</i>	Biocide	4,8 (4)	0	0	12,5 (1)	0
	PPP	0	0	0	0	0
<i>Myodes glareolus</i>	Biocide	2,4 (2)	0	0	12,5 (1)	0
	PPP	0	0	0	0	0

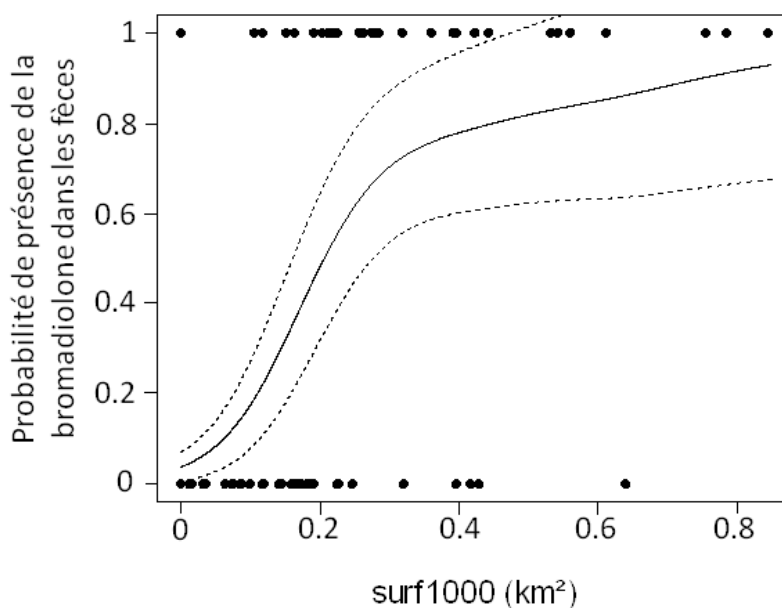


Figure 23. Probabilité de présence de la bromadiolone dans une fèces de « type renard » en fonction de la surface traitée dans un rayon de 1000 m (surf1000) autour du point de collecte.

Tableau 18. Comparaison des GAM explicatifs de la présence/absence de bromadiolone dans les fèces et incluant différentes combinaisons de variables de caractérisation des traitements bromadiolone PPP et de variables caractérisant la consommation de Campagnol terrestre et de Campagnol des champs.

GAM	LL	K	N2K	AICc	$\delta AICc$	w_{ic}
s(surf1000)	-48,49	3,47	46,07	104,12	0	0,34
s(surf1000) + zone traitée	-46,63	6,00	26,65	105,81	1,69	0,15
s(surf1000) + s(A.terrestris)	-48,45	4,40	36,39	106,01	1,89	0,13
s(surf1000) + s(Microtus)	-48,46	4,48	35,71	106,21	2,09	0,12
s(dist)	-52,21	5,00	32,00	114,81	10,69	0
s(surf1500)	-56,74	3,01	53,12	119,65	15,53	0
s(surf500)	-55,61	4,29	37,31	120,08	15,96	0
s(surfP1000)	-55,54	5,00	32,00	121,47	17,35	0
s(surfP1500)	-61,03	3,78	42,30	129,86	25,74	0
s(surf2000)	-63,86	2,68	59,70	133,20	29,08	0
s(surf3000)	-58,24	9,34	17,12	136,47	32,35	0
s(surfP500)	-62,41	6,05	26,47	137,47	33,35	0
s(surf2500)	-66,93	2,00	79,99	137,93	33,81	0
s(surfP2000)	-69,44	3,27	48,99	145,59	41,47	0
s(surfP2500)	-71,70	3,14	50,93	149,85	45,73	0
s(surfP3000)	-69,57	5,27	30,33	150,13	46,01	0
s(A.terrestris)	-79,46	2,00	80,00	163,00	58,88	0
s(Microtus)	-84,61	2,00	80,00	173,30	69,18	0

LL *Maximised log-likelihood* (Log-vraisemblance maximisée), K nombre de paramètres estimés, N/K nombre d'observations/K, AICc *Akaike index criterion* de second ordre, $\delta AICc$ différence avec l'AICc le plus faible du tableau, w_{ic} poids AICc.

Tableau 19. Comparaison des GLM explicatifs de la présence/absence de bromadiolone dans les fèces et incluant différentes combinaisons de variables de caractérisation des traitements bromadiolone PPP et de variables caractérisant la consommation de Campagnol terrestre et de Campagnol des champs.

Modèles	LL	K	N2K	AICc	$\delta AICc$	w_{ic}
surf1000 + zone traitée	-48,99	5	32	108,38	0,00	0,23
surf1000	-53,26	2	80	110,59	2,21	0,08
surf1000 + A.terrestris	-52,66	3	53,33	111,47	3,10	0,05
surf1000 + Microtus	-53,25	3	53,33	112,66	4,28	0,03
Dist	-58,93	2	80	121,94	13,56	0
surf1500	-59,53	2	80	123,13	14,75	0
surf500	-61,94	2	80	127,96	19,58	0
surf2000	-64,89	2	80	133,85	25,47	0
surfP1000	-65,18	2	80	134,43	26,05	0
surf2500	-66,93	2	80	137,93	29,55	0
surfP1500	-68,27	2	80	140,61	32,23	0
surf3000	-68,32	2	80	140,71	32,33	0
surfP500	-71,27	2	80	146,61	38,23	0
surfP2000	-73,94	2	80	151,96	43,59	0
surfP2500	-74,89	2	80	153,85	45,47	0
surfP3000	-75,31	2	80	154,70	46,32	0
A.terrestris	-79,46	2	80	163,00	54,62	0
zone traitée	-78,01	4	40	164,29	55,91	0
Microtus	-84,61	2	80	173,30	64,92	0

LL *Maximised log-likelihood* (Log-vraisemblance maximisée), K nombre de paramètres estimés, N/K nombre d'observations/K, AICc *Akaike index criterion* de second ordre, $\delta AICc$ différence avec l'AICc le plus faible du tableau, w_{ic} poids AICc.

III.4. Discussion

III.4.1. Biais d'identification des fèces :

Dans la plupart de nos secteurs d'étude, les fèces de renard sont les plus retrouvées parmi les fèces dont l'ADN a pu être amplifié ; globalement 77,6% des fèces amplifiées (n=210) sont des fèces de renard. Des résultats similaires ont été trouvés dans la péninsule ibérique ; d'après les tests génétiques, 82% des fèces amplifiées et collectées en tant que fèces de renard sur la base de critères morphologiques (appelées fèces de « type renard » par la suite) (n=119) ont été correctement identifiées (Monterroso *et al.* 2013). Le succès d'identification des fèces sur des critères morphologiques est favorisé lorsque l'espèce dont les fèces sont recherchées est abondante (Davison *et al.* 2002 ; Monterroso *et al.* 2013), ce qui est le cas du renard roux dans nos secteurs d'étude et globalement en France ou d'autres pays d'Europe (Artois 1997 ; Chautan, Pontier & Artois 2000 ; Delibes-Mateos *et al.* 2008). Cependant, dans un cas, les fèces amplifiées sont majoritairement celles de chat, ce qui montre que le succès d'identification reste dépendant des circonstances (observateurs, abondances locales des espèces et recouvrement de leurs régimes alimentaires ; Monterroso *et al.* 2013). Dans notre étude, l'ADN est faiblement amplifié (amplification réussie pour 15 à 50 % des

fèces selon les secteurs et les saisons) comparativement aux résultats de Monterroso *et al.* (2013) dans la péninsule ibérique (succès d'amplification pour 78,4 % des 320 fèces collectées) et de Vaniscotte *et al.* (2011) en Chine (53,2% de 158 ou 76,2 % de 126 fèces selon la session d'échantillonnage). Comme l'occurrence de bromadiolone ne diffère pas entre les taxons dans un contexte PPP, notre méthode permet d'analyser les facteurs influençant l'exposition à la bromadiolone de l'ensemble des carnivores de taille moyenne des secteurs échantillonnés ; notamment celle des renards roux et des chats forestiers et/ou domestiques. Le faible nombre de fèces positives dans un contexte biocide ne permet pas de savoir si l'exposition aux AVKs diffère entre les taxons. Cependant, les proportions de chaque taxon parmi les fèces dont l'ADN a pu être amplifié sont les mêmes entre les secteurs biocides et PPP ; permettant la comparaison de l'exposition mesurée dans les fèces entre les 2 types de secteurs.

III.4.2. Influence de la fraîcheur des fèces sur leur contamination aux AVKs

Selon l'hypothèse d'une disparition des AVKs dans les fèces au cours du temps par dégradation ou lessivage, la part de fèces positive aux AVKs devrait diminuer avec l'augmentation de l'indice de fraîcheur des fèces. En effet Prat-Mairet (2012) a mesuré la demi-vie des AVKs dans les fèces après leur excrétion en utilisant les fèces de renards captifs ayant ingéré des quantités égales de 6 AVKs (chlorophacinone, coumafène, brodifacoum, bromadiolone, difénacoum et diféthialone) et les demi-vies calculées vont de 5 (coumafène) à 8 jours (bromadiolone et diféthialone). Dans les 4 jours qui suivent le dépôt des fèces en nature, on conservait 80 à 100% de fèces positives pour toutes les molécules. Au bout de 7 jours on avait cependant, suivant les molécules, 40 à 100% de fèces positives (dont 80 % pour la bromadiolone). Il faut prendre ces données avec précaution en raison du faible nombre de réplicats à chaque temps de prélèvements (4 à 7), mais le délai pour identifier sans biais (intra et inter-molécules) les fèces positives apparaît relativement court (quelques jours). Or, dans notre étude on observe une tendance à une plus forte contamination des fèces de fraîcheur intermédiaire. Cela peut s'expliquer d'abord par une mauvaise évaluation de la fraîcheur des fèces ; les travaux de Piggott (2004) ont montré que les critères de couleur, de forme et de texture n'étaient pas suffisants pour déterminer la fraîcheur de fèces issues de renards en captivité tous nourris de la même manière. La variabilité des régimes alimentaires en nature (Sage 2008), ainsi que celle des conditions climatiques entre les saisons pourraient rendre encore plus complexe l'attribution d'un âge aux fèces collectées en nature. De plus, le signal est possiblement brouillé par la chronologie des traitements et des intoxications par rapport à la collecte : les fèces les plus vieilles ne sont pas forcément les moins contaminées si elles ont été excrétées dans les jours suivant une intoxication sur une parcelle récemment traitée ; c.-à-d. au moment où les concentrations maximales sont retrouvées dans les fèces (Sage *et al.* 2010).

Appréhender ici la chronologie des traitements et de l'exposition associée dans les fèces est complexe puisque, suivant les secteurs échantillonnés, les traitements pouvaient débuter jusqu'à 46 jours avant le début des collectes ou en être synchrone, que les collectes pouvaient s'étaler sur 21 jours, et que la validité de l'indice de fraîcheur utilisé est incertaine. Cependant, malgré la variabilité

liée aux chronologies d'intoxication et aux problèmes de persistance de la bromadiolone dans les fèces, notre méthode de collecte (ramassage dans les 5 semaines suivants la majorité des traitements d'un secteur) et de sélection des fèces (exclusion des fèces considérées comme les plus vieilles c.-à-d. d'indice de fraîcheur 5) permet d'obtenir un signal cohérent entre la contamination des fèces à la bromadiolone et les surfaces traitées (pseudo- r^2 de 42%). Notre méthode apparaît donc appropriée pour mesurer l'exposition des carnivores suite à la réalisation de traitements PPP contre le Campagnol terrestre. Enfin, et puisque le protocole de collecte était similaire entre les secteurs biocides et PPP, on peut raisonnablement supposer que l'exposition mesurée dans les fèces en secteur biocide reflète également les intoxications des carnivores ayant eu lieu pendant les quelques semaines précédant la collecte.

III.4.3. Lien entre usage des rodenticides, régime alimentaire et exposition aux AVKs

Nos résultats montrent qu'il est possible de détecter des AVKs dans les fèces de « type renard » collectées dans un contexte strictement biocide de traitements aux AVKs. D'après cette mesure d'exposition, les carnivores de taille moyenne (notamment le renard ; espèce dont les fèces ont été principalement collectées) sont moins exposés aux AVKs dans les secteurs biocides que dans les secteurs PPP. Cela peut s'expliquer par la contamination aux AVKs des rongeurs consommés dans les 2 contextes d'usage. En effet, dans les 2 contextes d'usage, les campagnols prairiaux (*Microtus sp* et *A. terrestris*) constituent la plupart des rongeurs retrouvés dans les fèces de « type renard », et d'après les résultats exposés dans le chapitre précédent, ils sont moins souvent contaminés et à de plus faibles niveaux de concentrations en secteurs biocides qu'en secteur PPP. Les rongeurs commensaux, qui sont en secteur biocide les plus souvent contaminés et aux plus hauts niveaux de concentrations (en particulier les rats surmulots ; chapitre II) sont, d'après notre étude, très peu consommés dans ces secteurs. Nous avons en effet une seule preuve de consommation d'une souris domestique et aucun rat surmulot n'est retrouvé. Nos résultats concordent avec les résultats de Raoul *et al.* (2010) dans les fèces « de type renard » collectées dans des sites de plaine de Franche-Comté : les *Murinae* étaient retrouvés au maximum dans 7% des fèces des sites échantillonnés et le Rat surmulot n'était jamais mentionné. Tosh *et al.* (2011) ont pu vérifier que le renard, espèce dont les fèces sont les plus retrouvées, est plus exposé dans des contextes où il consomme plus de rongeurs commensaux. La fréquence d'exposition aux SGARs mesurée dans le foie du Renard roux est ainsi plus grande en Irlande du Nord (84 % de 115 individus positifs) qu'en Ecosse (68 % de 44 individus) alors qu'en Irlande du Nord le cortège de proies est plus réduit et les renards y consommeraient plus de mulots sylvestres mais aussi et surtout plus de rongeurs commensaux.

Dans un contexte de traitements PPP, les fèces collectées sont plus contaminées aux AVKs qu'en secteur biocide, et on ne retrouve que la bromadiolone ; molécule utilisée dans la lutte contre le Campagnol terrestre et qui est quasiment la seule retrouvée dans les rongeurs dans ces secteurs (chapitre II). Ce rongeur, qui est ciblé par les traitements, est fortement exposé sur les parcelles

traitées (voir chapitre précédent), et il tend d'après nos résultats à être plus consommé en secteur PPP. Cette tendance est proche du seuil de significativité de 0,05, et on peut supposer que cela est dû à de trop faibles effectifs de fèces impliquées dans les tests. En effet, dans les travaux de Weber (1996) et de Raoul *et al.* (2010), la fréquence d'occurrence du Campagnol terrestre dans les fèces augmente avec les densités de cette espèce proie dans les fèces de « type renard », indiquant une spécialisation de ce carnivore sur le Campagnol terrestre dans les secteurs de pullulation. Pour les plus fortes densités de Campagnol terrestre, Raoul *et al.* (2010) observent cependant une saturation des consommations ; les fréquences d'occurrence se stabilisent en moyenne autour de 40% mais une forte variabilité subsiste qui est en partie causée par la disponibilité en *Microtus*, rongeurs très retrouvés également dans les fèces de « type renard ». En sus du Campagnol terrestre, les campagnols du genre *Microtus* sont en effet dans notre étude les seuls autres rongeurs retrouvés dans les fèces collectées en secteur PPP. Or, le Campagnol des champs, espèce qui est la plus susceptible d'être consommée en raison de ses fortes densités par rapport aux autres *Microtus*, est exposé à la bromadiolone sur les parcelles traitées et va donc également participer au transfert de la bromadiolone vers les carnivores.

Certaines fèces positives étaient des fèces de renard ; la spécialisation de son régime sur les campagnols prairiaux entraîne son exposition à la bromadiolone dans les secteurs traités en plein champs ; et cela parfois à des niveaux létaux. Des centaines de cas d'intoxication (suspectés ou confirmés) ont été référencés pour cette espèce dans ce contexte d'utilisation des rodenticides (Berny *et al.* 1997 ; Saucy, Meylan & Poitry 2001 ; Raoul *et al.* 2003 ; Kupper *et al.* 2006). Certaines fèces positives étaient celles de Chat forestier ou domestique mais le faible nombre de fèces retrouvées dans notre étude ne nous permet pas de conclure sur l'importance de la consommation, par les chats, des campagnols prairiaux par rapport aux autres espèces de rongeurs dans ce contexte. Campagnol terrestre et Campagnol des champs sont tous 2 retrouvés dans les fèces de chats en secteur PPP ; et peuvent être consommés par le Chat domestique (Germain, Ruelle & Pouille 2009 ; Montaz, Jacquot & Coeurdassier 2012) et le Chat forestier (Lozano, Moleon & Virgos 2006 ; Germain, Ruelle & Pouille 2009). Cependant, aucune intoxication de Chat forestier n'a été rapportée jusqu'à présent et très peu d'intoxications ont été mentionnées pour le Chat domestique ; 3 cas de 1997 à 1999 dans le Doubs (SAGIR 1993-2012) et 2 en Suisse (Saucy, Meylan & Poitry 2001). Les félinés seraient en effet moins sensibles aux SGARs que les canidés (Petterino & Paolo 2001 ; Rodrigues 2006). Par exemple lors de tests en captivité, la DL50 aigüe obtenue chez le chien pour le brodifacoum est inférieure à 4 mg/kg alors qu'elle est estimée à 25 mg/kg chez le chat (TOXNET 2012).

III.4.4. Lien entre la contamination des fèces et la distribution spatiale des traitements PPP à la bromadiolone

La contamination des fèces en secteur PPP est plus influencée par la probabilité de rencontrer une parcelle traitée que par celle de consommer un campagnol terrestre et/ou un campagnol des champs. En effet, alors que les rongeurs contaminés, en particulier les campagnols terrestres, sont

d'après le chapitre précédent, présents à proximité des traitements, la consommation de campagnols terrestres et de campagnols des champs par les carnivores ne se limite pas aux seules parcelles traitées. En effet, les pullulations de Campagnol terrestre sont des phénomènes d'amplitude régionale qui se propagent de proche en proche sous forme de « vague voyageuse » (Giraudoux *et al.* 1997). Ainsi les communes touchées par ces phénomènes de pullulation sont agrégées spatialement. D'après les études sur la dynamique des populations de campagnols du genre *Microtus*, notamment le Campagnol des champs, dans les secteurs PPP (Delattre *et al.* 1992 ; Giraudoux *et al.* 1994 ; Delattre *et al.* 1996 ; Delattre *et al.* 1999 ; Raoul *et al.* 2003 ; Michelat & Giraudoux 2006 ; Delattre & Giraudoux 2009 ; Bernard *et al.* 2010), le Campagnol des champs peut atteindre des densités élevées de plusieurs centaines d'individus par hectare et serait consommé de façon importante, dès lors que l'espèce est présente, même à très faible densité (Raoul *et al.* 2010).

Malgré le fait que les rongeurs contaminés soient essentiellement présents à proximité des parcelles traitées, la distance des fèces aux parcelles traitées explique moins la contamination des fèces (en termes d'occurrence) à la bromadiolone que la surface traitée dans 1 rayon d'1 km autour des fèces. En effet nous avons échantillonné des fèces dans un rayon de 3 km autour des traitements et ainsi, les parcelles traitées restaient toujours comprises dans le rayon d'action des renards (Artois 1989 ; Henry, Poulle & Roeder 2005). Ainsi, c'est la surface traitée dans un rayon d'1 km autour des fèces, soit dans une surface de 3 km² environ, qui explique le mieux la contamination des fèces à la bromadiolone ce qui correspond à la taille maximale du domaine vital du renard. La taille des domaines vitaux des renards sédentaires était en effet comprise entre 0,48-et 3,06 km² dans le Jura Suisse (Meia & Weber 1995) et 0,31-3,11 km² dans les Ardennes (Henry, Poulle & Roeder 2005). Cette surface de 3 km² concorde mieux avec les superficies des domaines vitaux mesurées pour les chats forestiers ou hybrides (surfaces de 0,33 à 5,49 km² en Argonne-ardenaise ; Germain, Benhamou & Poulle 2008 ou 0,3 à 3,3 km² en Artois ; Sordello 2012) qu'avec celles mesurées pour les chats domestiques (domaines vitaux de 0,04 à 0,82 km² en Argonne-ardenaise centrés sur une ferme ; Germain, Benhamou & Poulle 2008). Cependant la configuration paysagère du Haut-Doubs (fermes dispersées dans le paysage) ; et en particulier du secteur où sont retrouvés les fèces de chats (mont de Fuans essentiellement) fait que peu de parcelles sont très éloignées des fermes. De plus, les chats domestiques augmentent leur dispersion par rapport au village lors d'épisodes de pullulation de rongeurs (comme observé par Giraudoux (1991) sur les plateaux du Jura lors de fortes densités de campagnol des champs). Les fèces des chats forestier et domestique sont donc susceptibles d'avoir été collectées.

Les surfaces traitées expliquent mieux la contamination des fèces que les surfaces traitées pondérées par les quantités d'appâts utilisées. C'est donc essentiellement la probabilité de rencontrer une surface traitée par le carnivore qui déterminerait sa probabilité d'exposition, et cela quelles que soient les quantités d'appâts utilisées sur les parcelles. Cela signifie que les traitements étaient toujours suffisamment importants pour engendrer une contamination des fèces de carnivores se nourrissant sur la parcelle et/ou qu'ils n'étaient pas suffisamment différents pour engendrer une contamination différente des fèces (ils allaient de 0,8 à 14,5 kg/ha à l'échelle parcellaire). Si les concentrations présentes dans les campagnols terrestres sont, d'après des expérimentations en

nature, fonction des quantités utilisées sur la parcelle (Delattre & Giraudoux 2009), la variabilité des quantités ingérées par les prédateurs ne se répercuterait pas sur les probabilités d'occurrence de la bromadiolone dans leurs fèces. Sage *et al.* (2010) ont en effet observé, lors d'une expérience sur des renards en captivité, que malgré une plus faible ingestion de bromadiolone par un des 4 renards exposés (la concentration maximale excrétée par ce renard était au moins 10,8 fois inférieure à celles des autres renards), la bromadiolone restait détectable dans les fèces de tous les renards collectées 26 jours après la dernière exposition.

Des résidus de bromadiolone peuvent être retrouvés dans les fèces de carnivores échantillonnées (donc celles de renards et chats en particulier) dès les premières surfaces traitées, et la proportion de fèces positives augmente rapidement ensuite avec les surfaces traitées (la probabilité d'occurrence de la bromadiolone passe de 0 à 80 % pour des surfaces allant 0 et 0,45 km²). Les carnivores sont donc susceptibles d'être exposés dès que la bromadiolone est utilisée contre le Campagnol terrestre. Sachant que les proies sont *a priori* largement disponibles dans le paysage, cela suggère que les parcelles traitées sont plus attractives pour les carnivores par rapport aux autres zones de chasse. Saucy, Meylan & Poitry (2001) avancent que 38 % des campagnols terrestres intoxiqués viennent mourir en surface des parcelles traitées et cette attractivité pourrait être expliquée par l'existence de cadavres de rongeurs ou d'individus moribonds présents en surface ou plus accessibles dans les parcelles traitées.

Enfin, nous pouvons proposer un seuil d'exposition des carnivores de taille moyenne (notamment le Renard roux et les Chats forestier et domestique) : au-delà d'une surface traitée dépassant 0,45 km² dans un rayon d'1 km autour du point de dépôt d'une fèces (soit 15% de la surface maximale du domaine vital du renard), la probabilité que les fèces soient contaminées est supérieure à 80 % ; et les carnivores sont donc presque systématiquement exposés à la bromadiolone.

III.4.5. Conclusion

Nous avons montré que l'identification des fèces des renards *in situ* sur la base de critères morphologiques ne permet pas d'obtenir des fèces de cette seule espèce. Les fèces collectées sont cependant principalement celles de renards ; et cela dans les 2 contextes d'utilisation des rodenticides (biocide ou PPP). Par ailleurs, malgré la variabilité liée aux chronologies d'intoxication et à la persistance de la bromadiolone dans les fèces, notre méthode de collecte et de sélection des fèces permet d'obtenir un signal cohérent entre la contamination des fèces à la bromadiolone et les surfaces PPP traitées.

Des AVKs sont retrouvés dans les fèces d'espèces sauvages (renard roux, etc.) et domestiques (chien, etc.). Les différences d'exposition mesurées dans les fèces entre les secteurs biocides et PPP peuvent s'expliquer par la contamination aux AVKs des proies consommées dans chacun des contextes d'usage. La contamination des fèces est très faible dans un contexte biocide (1,25% de fèces contaminées) alors que les rongeurs commensaux (rats, souris), proies les plus contaminées dans ce contexte de traitement aux AVKs, ne sont en effet que peu consommées. Dans un contexte

PPP, les fèces sont plus souvent contaminées aux AVKs et la seule molécule retrouvée, la bromadiolone, est celle qui est autorisée dans la lutte PPP contre le Campagnol terrestre. En effet, dans ces secteurs, les carnivores vont essentiellement consommer des campagnols terrestres, espèce ciblée par les traitements, ainsi que des campagnols des champs, espèce également exposée à la bromadiolone sur les parcelles traitées. Les événements d'intoxication des carnivores sont donc moins fréquents dans les secteurs biocides que dans les secteurs PPP. Ceci peut *a priori* paraître contradictoire avec les forts taux d'exposition hépatiques notés par ailleurs pour les carnivores dans des contextes biocides (Elmeros, Christensen & Lassen 2011 ; Tosh *et al.* 2011), mais s'explique par la persistance relative des AVKs dans les fèces et le foie de carnivore. Alors qu'on estime ici que la mesure d'exposition dans les fèces est représentative des phénomènes d'intoxication dans les quelques semaines précédant la collecte des fèces, les AVKs mesurés dans le foie sont potentiellement représentatifs des expositions dans les mois précédant la mort de l'animal (la demi-vie de la bromadiolone est par exemple de plus de 10 mois dans le foie chez le rat ; Erickson & Urban 2004).

Notre étude a par ailleurs permis de mettre en évidence que, dans un contexte PPP et pour les plus petites surfaces traitées, l'augmentation des surfaces traitées se traduit par une augmentation significative de l'exposition mesurée dans les fèces. Puis, lorsque les surfaces traitées dépassent 15 % des surfaces prospectées par les carnivores, les probabilités de retrouver de la bromadiolone dans leurs fèces et donc qu'ils soient exposés augmentent plus doucement mais sont toujours grandes puisque supérieures à 80%.

Les 2 premiers chapitres de ce manuscrit nous ont permis de documenter les processus impliqués dans le transfert des rodenticides anticoagulants vers les prédateurs carnivores ; notamment le renard. Dans les chapitres suivants, nous aborderons les effets de ces substances sur les prédateurs. Nous testerons d'abord l'applicabilité des tests au gaïac, utilisés chez l'Homme, pour détecter les hémorragies causées par les AVKs dans les fèces de renard. Ensuite, nous appréhenderons l'effet des AVKs sur les dynamiques de populations de prédateurs en étudiant le lien entre l'intensité des traitements bromadiolone PPP et les densités indiciaires de renards roux.

III.5. Bibliographie

- Albert, C.A., Wilson, L.K., Mineau, P., Trudeau, S. & Elliott, J.E. (2010) Anticoagulant Rodenticides in Three Owl Species from Western Canada, 1988-2003. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **58**, 451-459.
- Artois, M. (1989) Le renard roux (*Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758). *Encyclopédie des carnivores de France*. (eds. M. Artois & P. Delattre), pp. 90. Société Française pour l'Etude et la Protection des Mammifères, Nort/Erdre.
- Artois, M. (1997) Managing problem wildlife in the 'Old World': A veterinary perspective. *Reproduction Fertility and Development*, **9**, 17-25.

- Bernard, N., Michelat, D., Raoul, F., Quere, J.P., Delattre, P. & Giraudoux, P. (2010) Dietary response of Barn Owls (*Tyto alba*) to large variations in populations of common voles (*Microtus arvalis*) and European water voles (*Arvicola terrestris*). *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, **88**, 416-426.
- Berny, P., Buronfosse, T., Buronfosse, F., Lamarque, F. & Lorgue, G. (1997) Field evidence of secondary poisoning of foxes (*Vulpes vulpes*) and buzzards (*Buteo buteo*) by bromadiolone, a 4-year survey. *Chemosphere*, **35**, 1817-1829.
- Berny, P., Velardo, J., Pulce, C., D'Amico, A., Kammerer, M. & Lasseur, R. (2010) Prevalence of anticoagulant rodenticide poisoning in humans and animals in France and substances involved. *Clinical Toxicology*, **48**, 935-941.
- Bivand, R. & Lewin-Koh, N. (2013) *maptools: Tools for reading and handling spatial objects*. Version 0.8-23. <http://r-forge.r-project.org/projects/maptools/>.
- Burnham, K.P. & Anderson, D.R. (2002) *Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach*, 2nd edn. Springer, Berlin.
- Chame, M. (2003) Terrestrial mammal feces: a morphometric summary and description. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, **98**, 71-94.
- Chautan, M., Pontier, D. & Artois, M. (2000) Role of rabies in recent demographic changes in Red Fox (*Vulpes vulpes*) populations in Europe. *Mammalia*, **64**, 391-410.
- Christensen, T.K., Lassen, P. & Elmeros, M. (2012) High Exposure Rates of Anticoagulant Rodenticides in Predatory Bird Species in Intensively Managed Landscapes in Denmark. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **63**, 437-444.
- Cochran, W.G. (1954) Some methods for strengthening the common χ^2 test. *Biometrics*, **10**, 417-451.
- Davison, A., Birks, J., Brookes, R., Braithwaite, T. & Messenger, J. (2002) On the origin of faeces: morphological versus molecular methods for surveying rare carnivores from their scats. *Journal of Zoology, London*, **257**, 141-143.
- Delattre, P. & Giraudoux, P. (2009) *Le campagnol terrestre. Prévention et contrôle des populations*, edn. Editions Quae, Versailles.
- Delattre, P., De Sousa, B., Fichet-Calvet, E., Quere, J.P. & Giraudoux, P. (1999) Vole outbreaks in a landscape context: evidence from a six year study of *Microtus arvalis*. *Landscape Ecology*, **14**, 401-412.
- Delattre, P., Giraudoux, P., Baudry, J., Musard, P., Toussaint, M., Truchetet, D., Stahl, P., Poule, M.L., Artois, M., Damange, J.P. & Quere, J.P. (1992) Land-use patterns and types of common vole (*Microtus arvalis*) population-kinetics. *Agriculture Ecosystems & Environment*, **39**, 153-169.
- Delattre, P., Giraudoux, P., Baudry, J., Quere, J.P. & Fichet, E. (1996) Effect of landscape structure on Common Vole (*Microtus arvalis*) distribution and abundance at several space scales. *Landscape Ecology*, **11**, 279-288.
- Delibes-Mateos, M., de Simon, J.F., Villafuerte, R. & Ferreras, P. (2008) Feeding responses of the red fox (*Vulpes vulpes*) to different wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) densities: a regional approach. *European Journal of Wildlife Research*, **54**, 71-78.
- Diggle, P.J. & Ribeiro Jr, P.J. (2007) *Model Based Geostatistics*, Springer, New York.
- Dinkel, A., Kern, S., Brinker, A., Oehme, R., Vaniscotte, A., Giraudoux, P., Mackenstedt, U. & Romig, T. (2011) A real-time multiplex-nested PCR system for coprological diagnosis of *Echinococcus multilocularis* and host species. *Parasitology Research*, **109**, 493-498.
- Eason, C., Murphy, E., Wright, G. & Spurr, E. (2002) Assessment of risks of brodifacum to non-target birds and mammals in New Zealand. *Ecotoxicology*, **11**, 35-48.
- Eckert, J., Gottstein, B., Heath, D. & Liu, F.J. (2001) Prevention of echinococcosis in humans and safety precautions. *WHO/OIE Manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern*. (eds. J. Eckert, M.A. Gemmell, F.X. Meslin & Z.S. Pawlowski), pp. 238-247. WHO/OIE, Paris.

- Elmeros, M., Christensen, T.K. & Lassen, P. (2011) Concentrations of anticoagulant rodenticides in stoats *Mustela erminea* and weasels *Mustela nivalis* from Denmark. *Science of the total environment*, **409**, 2373-2378.
- Erickson, W. & Urban, D. (2004) *Potential Risks of Nine Rodenticides to Birds and Nontarget Mammals: A Comparative Approach*. United States Environmental Protection Agency Washington DC 20460.
- Fisher, P.M., Booth, L.H., Brown, L.E. & Champion, M. (2012) Anticoagulant rodenticides in New Zealand birds - so what?. In *6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting*, Berlin.
- Fourel, I., Hugnet, C., Goy-Thollot, I. & Berny, P. (2010) Validation of a New Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Ion-Trap Technique for the Simultaneous Determination of Thirteen Anticoagulant Rodenticides, Drugs, or Natural Products. *Journal of Analytical Toxicology*, **34**, 95-102.
- Germain, E., Ruelle, S. & Poulle, M.L. (2009) Likeness between the food habits of European wildcats, domestic cats and their hybrids in France. *Mammalian Biology*, **74**, 412-417.
- Germain, E., Benhamou, S. & Poulle, M.-L. (2008) Spatio-temporal sharing between the European wildcat, the domestic cat and their hybrids. *Journal of Zoology*, **276**, 195-203.
- Giraudoux, P. (1991) *Utilisation de l'espace par les hôtes du ténia multiloculaire (Echinococcus multilocularis) : conséquences épidémiologiques*. PhD thesis, Université de Bourgogne.
- Giraudoux, P. (2013) *pgirmess: Data analysis in ecology. Version 1.5.7*. <http://perso.orange.fr/giraudoux>.
- Giraudoux, P., Delattre, P., Habert, M., Quere, J.P., Deblay, S., Defaut, R., Duhamel, R., Moissenet, M.F., Salvi, D. & Truchetet, D. (1997) Population dynamics of fossorial water vole (*Arvicola terrestris shermani*): a land usage and landscape perspective. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **66**, 47-60.
- Giraudoux, P., Delattre, P., Quere, J.P. & Damange, J.P. (1994) Structure and kinetics of rodent populations, in a region under agritural land abandonment. *Acta Oecologica*, **15**, 385-400.
- Giraudoux, P., Delattre, P., Takahashi, K., Raoul, F., Quéré, J.P., Craig, P. & Vuitton, D. (2002) Transmission ecology of *Echinococcus multilocularis* in wildlife : what can be learned from comparative studies and multi-scale approaches ?. *Cestode zoonoses : an emergent and global problem*. (eds. P. Craig & Z. Pawlowski), pp. 251-262. NATO Sciences Series, IOS press, Amsterdam.
- Henry, C., Poulle, M.L. & Roeder, J.J. (2005) Effect of sex and female reproductive status on seasonal home range size and stability in rural red foxes (*Vulpes vulpes*). *Ecoscience*, **12**, 202-209.
- Hijmans, R.J. & van Etten, J. (2013) *raster: Geographic data analysis and modeling. Version 2.1-25*. <http://cran.r-project.org/web/packages/raster/>.
- Kupper, J., Grobosch, T., Kistler, R., Sydler, T. & Naegeli, H. (2006) Bromadiolone poisoning in foxes. *Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde*, **148**, 405-408.
- Laakso, S., Suomalainen, K. & Koivisto, S. (2010) Literature Review on Residues of Anticoagulant Rodenticides in Non-Target Animals. *TemaNord*, **541**, 1-47.
- Lambert, O., Pouliquen, H., Larhantec, M., Thorin, C. & L'Hostis, M. (2007) Exposure of raptors and waterbirds to anticoagulant rodenticides (Difenacoum, bromadiolone, coumatetralyl, coumaten, brodifacoum): Epidemiological survey in Loire-Atlantique (France). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **79**, 91-94.
- Lozano, J., Moleon, M. & Virgos, E. (2006) Biogeographical patterns in the diet of the wildcat, *Felis silvestris* Schreber, in Eurasia: factors affecting the trophic diversity. *Journal of Biogeography*, **33**, 1076-1085.
- Meia, J.S. & Weber, J.M. (1995) Home ranges and movements of red foxes in central Europe: Stability despite environmental changes. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, **73**, 1960-1966.

- Michelat, D. & Giraudoux, P. (2006) Synchrony between small mammal population dynamics in marshes and adjacent grassland in a landscape of the Jura plateau, France: a ten year investigation. *Acta Theriologica*, **51**, 155-162.
- Montaz, J., Jacquot, M. & Coeurdassier, M. (2012) Mesure expérimentale de la consommation de carcasses de campagnols terrestres suite à un traitement à la bromadiolone. In *Colloque de la Société française d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquée*, Lyon.
- Monterroso, P., Castro, D., Silva, T.L., Ferreras, P., Godinho, R. & Alves, P.C. (2013) Factors affecting the (in)accuracy of mammalian mesocarnivore scat identification in South-western Europe. *Journal of Zoology*, **289**, 243-250.
- Murray, M. (2011) Anticoagulant rodenticide exposure and toxicosis in four species of birds of prey presented to a wildlife clinic in massachusetts, 2006-2010. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, **42**, 88-97.
- Pebesma, E.J. & Bivand, R.S. (2005) Classes and methods for spatial data in R. *R News*, **5**, 9-13.
- Petterino, C. & Paolo, B. (2001) Scientific reviews - Toxicology of various anticoagulant rodenticides in animals. *Vet. Human Toxicol*, **46**, 353-360.
- Piggott, M.P. (2004) Effect of sample age and season of collection on the reliability of microsatellite genotyping of faecal DNA. *Wildlife Research*, **31**, 485-493.
- Prat-Mairet, Y. (2012) *Persistance des rodenticides anticoagulants dans les fèces de renards. Évaluation de la conservation du signal pour une mesure de l'exposition en nature*. Mémoire de Master 2, Université de Franche-Comté.
- Quantum GIS Development Team (2012) *Quantum GIS Geographic Information System*. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>.
- Quéré, J. & Le Louarn, H. (2011) *Les rongeurs de France. Faunistique et biologie*. Editions Quae, Versailles, France.
- R Development Core Team (2013) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, <http://www.R-project.org>.
- Raoul, F., Deplazes, P., Rieffel, D., Lambert, J.C. & Giraudoux, P. (2010) Predator dietary response to prey density variation and consequences for cestode transmission. *Oecologia*, **164**, 129-139.
- Raoul, F., Michelat, D., Ordinaire, M., Decote, Y., Aubert, M., Delattre, P., Deplazes, P. & Giraudoux, P. (2003) *Echinococcus multilocularis*: secondary poisoning of fox population during a vole outbreak reduces environmental contamination in a high endemicity area. *International Journal for Parasitology*, **33**, 945-954.
- Rodrigues, J.P. (2006) *Intoxication des carnivores domestiques par les rodenticides anticoagulants - Etude épidémiologique d'après les données du C.N.I.T.V. de 1993 à 2004 et influence de la résistance des rats aux anticoagulants*. Thèse vétérinaire, Université Claude Bernard Lyon I, Lyon.
- SAGIR (1993-2012) *Traitement de campagnols aux anticoagulants. Evaluation de la mortalité de la faune non cible dans le Doubs et l'Auvergne*. Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage.
- Sage, M. (2008) *Transfert de bromadiolone (appâts/sols – campagnols de prairie – renards) : Etude environnementale de la persistance et mesure indirecte de l'exposition*. PhD thesis, Université de Franche-Comté.
- Sage, M., Fourel, I., Coeurdassier, M., Barrat, J., Berny, P. & Giraudoux, P. (2010) Determination of bromadiolone residues in fox faeces by LC/ESI-MS in relationship with toxicological data and clinical signs after repeated exposure. *Environmental Research*, **110**, 664-674.
- Sanchez-Barbudo, I.S., Camarero, P.R. & Mateo, R. (2012) Primary and secondary poisoning by anticoagulant rodenticides of non-target animals in Spain. *Science of the Total Environment*, **420**, 280-288.
- Saucy, F., Meylan, A. & Poitry, R. (2001) Lessons from 18 years of use of anticoagulants against fossorial *Arvicola terrestris* in Switzerland. *Advances in vertebrate pest management II*. (eds. J. Pelz, P. Cowan & C. Feare), pp. 71-90. Filander Verlag, Fürth, .

- Shore, R.F., Walker, L.A., Pereira, M.G. & Potter, D.E. (2012) What do anticoagulant rodenticide residues in predatory birds and mammals tell us about non-target exposure and risk?. In *6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting*, Berlin.
- Sordello, R. (2012) *Le chat forestier Felis silvestris. Synthèse bibliographique sur les déplacements et les besoins de continuités d'espèces animales*. MNHN-SPN.
- TOXNET (2012) *Brodifacoum*. Toxicology Data Network, United States National Library, <http://toxnet.nlm.nih.gov>, site consulté le 04/04/2013.
- Thomas, P.J., Mineau, P., Shore, R.F., Champoux, L., Martin, P.A., Wilson, L.K., Fitzgerald, G. & Elliott, J.E. (2011) Second generation anticoagulant rodenticides in predatory birds: Probabilistic characterisation of toxic liver concentrations and implications for predatory bird populations in Canada. *Environmental International*, **37**, 914-920.
- Tosh, D.G., McDonald, R.A., Bearhop, S., Llewellyn, N.R., Fee, S., Sharp, E.A., Barnett, E.A. & Shore, R.F. (2011) Does small mammal prey guild affect the exposure of predators to anticoagulant rodenticides?. *Environmental Pollution*, **159**, 3106-3112.
- US FDA (2001) *Guidance for Industry. Bioanalytical Method Validation*. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research. Center for Veterinary Medicine. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070107.pdf>.
- Vandenbroucke, V., Bousquet-Mélou, A., De Backer, P. & Croubels, S. (2008) Pharmacokinetics of eight anticoagulant rodenticides in mice after single oral administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **31**, 437-445.
- Vaniscotte, A., Raoul, F., Poulle, M.L., Romig, T., Dinkel, A., Takahashi, K., Guislain, M.H., Moss, J., Tiaoying, L., Wang, Q., Qiu, J., Craig, P.S. & Giraudoux, P. (2011) Role of dog behaviour and environmental fecal contamination in transmission of *Echinococcus multilocularis* in Tibetan communities. *Parasitology*, **138**, 1316-1329.
- Walker, L.A., Llewellyn, N.R., Pereira, M.G., Potter, E.D., Sainsbury, A.W. & Shore, R.F. (2012) *Anticoagulant rodenticides in predatory birds 2010: a Predatory Bird Monitoring Scheme (PBMS) report*. Centre for Ecology & Hydrology, Lancaster, UK.
- Weber, J.M. (1996) Food selection by adult red foxes *Vulpes vulpes* during a water vole decline. *Wildlife biology*, **2(4)**, 283-288.
- Wood, S. (2006) *Generalized Additive Models: An Introduction with R*, 1 edn. Chapman and Hall/CRC, US.
- Zuur, A.F., Ieno, E.N., Walker, N.J., Saveliev, A.A. & Smith, G.M. (2009) *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*, edn. Springer Science+Business Media LLC, New York.

IV. Quels sont les effets des AVKs sur les populations de Renard roux ?

IV.A. Est-ce que les tests Hemoccult II® sont utilisables dans les fèces de renard pour la détection d'hémorragies causées par les AVKs ?

IV.A.1. Introduction

Ce chapitre vise à tester la faisabilité de l'utilisation d'un marqueur non-invasif d'effet des AVKs qui complémenterait les marqueurs d'exposition chez le Renard roux. La possibilité de détecter le sang hémorragique dans les fèces de renards intoxiqués aux AVKs avec les tests Hemoccult II® a été testée. Ces tests sont utilisés chez l'Homme dans la détection du cancer colorectal (Faivre, Dancourt & Lejeune 2012). Ils reposent sur la détection de l'activité peroxydasique de l'hème et permettent de détecter des saignements au niveau du tube digestif. Des problèmes de spécificité existent cependant puisque les peroxydases des aliments ingérés (fruits ou viande rouge) peuvent rendre le test positif (Winawer 2007). Des tests préliminaires ont donc été menés sur les fèces de renards nourris avec des campagnols terrestres ne contenant pas d'AVKs.

IV.A.2. Matériel et méthodes

Des campagnols terrestres ont été piégés sur des parcelles non traitées à la bromadiolone depuis plusieurs années (zone en Agriculture Biologique à la Chaux de Gilley, 25). Le nourrissage des renards s'est déroulé au centre d'expérimentation du Laboratoire d'Etudes et de Recherches sur la Rage et la Pathologie des Animaux Sauvages de l'ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) de Nancy sous la responsabilité du Pr. Jacques Barrat.

Quatorze renards argentés (*Vulpes vulpes*) captifs, habituellement nourris avec des croquettes, ont été soumis à 2 jours de jeûne puis ont été nourris pendant 2 jours avec 2 campagnols terrestres/jour (délivrés en une fois). Les campagnols étaient délivrés simultanément à tous les renards excepté un individu qui a reçu, suite à un problème logistique, les campagnols 4 heures après les autres le premier jour. La vitesse de consommation des campagnols ainsi que les quantités ingérées ont été notées. Trois collectes de fèces ont eu lieu au cours desquelles toutes les fèces sous les cages étaient prélevées et le sol soigneusement lavé. La première collecte a eu lieu juste avant le 1^{er} nourrissage avec des campagnols, cela fin de vérifier l'absence d'hémorragies chez les renards utilisés avant le test. La seconde collecte a eu lieu juste avant le 2^e nourrissage avec des campagnols et la troisième a eu lieu le lendemain du 2^e nourrissage.

Les plaquettes de tests Hemoccult II®, ainsi que les protocoles de prélèvement et de révélation, ont été gracieusement fournis par SKD France. Pour chaque renard et pour chaque collecte, 2 échantillons ont été prélevés, chacun avec une spatule différente, en 2 endroits distincts d'1 fèces ou sur 2 fèces différentes et chacun d'entre eux a été étalé dans un des encarts d'une même plaquette Hemoccult II® (Figure 24). La révélation des tests a été faite 12 à 13 jours après le prélèvement ; conformément à SKD France 2006 et en intégrant les conseils du laboratoire de la Caisse Primaire

d'Assurance Maladie de Dijon, spécialisé dans la lecture de ces tests (voir détails dans la Figure 24). Les fréquences de renard présentant au moins un échantillon positif ont été comparées entre les collectes avec le test du Chi-2 ; les catégories PP (2 échantillons de la plaquette positifs) et PN (1 seul échantillon de la plaquette positif) ont été regroupées pour satisfaire aux règles de Cochran (Cochran 1954).

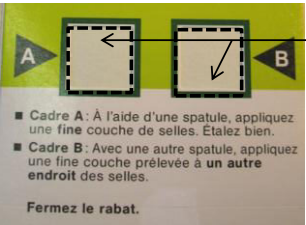
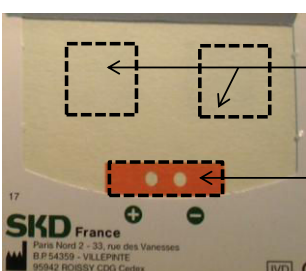


<p>A. Face avant de la plaquette</p>  <p>zones d'application des échantillons</p> <p>B. Face arrière de la plaquette</p>  <p>zones d'application de la solution d'H₂O₂</p> <p>zone d'autocontrôle</p> <p>C. Prélèvements négatifs</p>  <p>D. Prélèvements positifs</p> 	<p>Protocole d'utilisation :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Prélèvement d'une quantité de fèces suffisante pour recouvrir les encarts de papier buvard imprégné de gaïac prévus pour appliquer les échantillons (photo A ci-contre). 2. Révélation des tests (2 à 15 jours après le prélèvement) : <ol style="list-style-type: none"> 2.1. <i>Vérification du bon fonctionnement et de la stabilité des plaquettes</i> Application d'une goutte de solution de peroxyde d'hydrogène H₂O₂ Hemocult® sur la zone d'autocontrôle et lecture dans les 10 secondes. La solution et la plaquette sont fiables si la zone positive du système d'autocontrôle se colore en bleu mais que ce n'est pas le cas de la zone négative (photos B,C, D). 2.2. <i>Révélation des prélèvements</i> Application de la solution de H₂O₂ au verso des zones d'application des échantillons (photo A et B) ; cela jusqu'à recouvrement total de ces zones. Lecture du test dans les 60 secondes. Si des peroxydases sont présentes dans l'échantillon (celle de l'hémoglobine du sang notamment), elles activent la réaction entre le gaïac et le peroxyde d'hydrogène contenu dans le réactif de révélation, et une coloration bleue apparaît ; le prélèvement est alors positif (photo D). Dans le cas contraire, le prélèvement est négatif (photo C).
--	---

Figure 24. Protocole d'utilisation des plaquettes Hemocult II® adapté de SKD France 2006 et illustré par les A/ face avant, B/ face arrière des plaquettes vierges de test, C/ prélèvements révélés négatifs (absence de peroxydase), D/ prélèvements révélés positifs.

IV.A.3. Résultats

A chaque nourrissage, tous les renards ont consommé entièrement les 2 campagnols délivrés. D'après les systèmes d'autocontrôle, tous les tests utilisés étaient fiables. Aucune activité peroxydasique n'a été détectée dans les fèces prélevées lorsque les renards avaient une alimentation à base de croquettes (tests NN) (Figure 25). Le lendemain de la 1^{ère} consommation de campagnols, une activité peroxydasique a été mise en évidence dans les 2 prélèvements de 78,6 % des renards (11/14 renards PP, Figure 25). Seuls 2 renards (soit 14,3 %), dont le renard ayant reçu les

campagnols plus tard que les autres, n'avaient aucun prélèvement positif (renards NN, Figure 25). Le renard qui met le plus de temps à consommer les campagnols (40 minutes) a un test doublement positif. Le lendemain de la 2^e consommation de campagnols, une activité peroxydasique est mise en évidence pour la totalité des renards (dans au moins 1 des 2 prélèvements ; renards PP ou PN, Figure 25). Trois renards n'ont qu'un seul prélèvement positif, alors qu'ils ont été parmi les plus rapides à consommer les campagnols (moins de 4 minutes, alors que certains mettent plus de 13 minutes). Les fréquences de renards présentant au moins 1 prélèvement positif sont significativement plus élevées pour les 2 collectes suivant les ingestions de campagnols, que pour la collecte qui les précèdent (test du Chi-2, $\chi^2=23,1$, $p<0,001$).

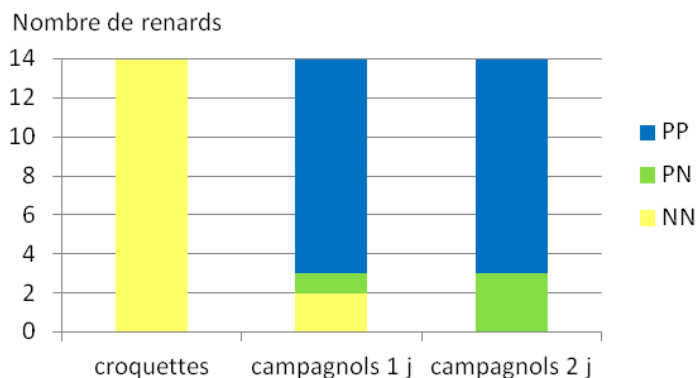


Figure 25. Résultats des tests Hemocult II (PP : les 2 prélèvements sont positifs, PN : 1 prélèvement négatif et 1 prélèvement positif, NN : les 2 prélèvements sont négatifs) réalisés sur les fèces de renard collectées lorsque l'alimentation est à base de croquettes (croquettes), le lendemain de la 1^{ère} consommation de campagnols (campagnols 1j), le lendemain de la 2^e consommation de campagnols (campagnols 2j).

IV.A.4. Discussion et conclusion

Chez des renards captifs, le passage d'une alimentation à base de croquettes à une alimentation à base de campagnols entraîne l'apparition dans leurs fèces d'une activité peroxydasique détectable avec les tests Hemocult II®. Chez l'homme, les peroxydases des aliments ingérés (notamment celles de la viande rouge ; *i.e.* l'activité peroxydasique de l'hémoglobine qu'elle contient) peuvent rendre les tests Hemocult II positifs (Winawer 2007). Ainsi, l'activité peroxydasique détectée dans les fèces de renard après la consommation de campagnols est très probablement celle de l'hémoglobine des campagnols ingérés.

La non-détection d'une activité peroxydasique dans certaines fèces prélevées après l'ingestion de campagnols peut être due à l'excrétion de bols alimentaires composés de croquettes. La collecte des fèces a eu lieu 4 et 5 jours après la dernière consommation de croquettes. Or, Sage *et al.* (2010) ont montré que l'excrétion de nourriture peut prendre jusqu'à 1 semaine chez le renard : après l'arrêt de consommation de campagnols et un retour à une nourriture à base de croquettes, ils ont pu retrouver des poils de rongeurs pendant 7 jours dans les fèces de renards captifs. L'hétérogénéité des

fèces (concentration de poils en certains endroits par exemple) peut également expliquer l'absence de peroxydase dans certains des prélèvements. Les différences dans les comportements de consommation des campagnols (vitesse, importance de la consommation) entre les renards ne semblent pas suffisantes dans cette étude pour expliquer la non-détection d'une activité peroxydasique dans les fèces.

Bien que l'activité peroxydasique ne soit pas détectée de façon systématique consécutivement à l'ingestion de campagnols, sa détection est largement majoritaire ; on a plus de 78% de renards doublement positifs pour les 2 collectes. Les tests Hemoccult II® ne peuvent donc pas être utilisés pour détecter les hémorragies intestinales de prédateurs qui font suite à l'ingestion de campagnols intoxiqués. La différenciation du sang des prédateurs de celui de leurs proies dans les fèces nécessiterait le développement de techniques immunologiques ou génétiques, comme celles mises au point chez l'Homme pour améliorer la spécificité des tests de détection de l'hémoglobine dans les fèces (Winawer 2007 ; Faivre, Dancourt & Lejeune 2012).

IV.A.5. Bibliographie

- Cochran, W.G. (1954) Some methods for strengthening the common χ^2 test. *Biometrics*, **10**, 417-451.
- Faivre, J., Dancourt, V. & Lejeune, C. (2012) Screening for colorectal cancer with immunochemical faecal occult blood tests. *Digestive and Liver Disease*, **44**, 967-973.
- SKD France (2006) *Hemoccult II®. Test pour la recherche de sang dans les selles. Informations et instructions d'Utilisation. Dépistage organisé pour 800 patients.* www.skdfrance.com.
- Sage, M., Fourel, I., Coeurdassier, M., Barrat, J., Berny, P. & Giraudoux, P. (2010) Determination of bromadiolone residues in fox faeces by LC/ESI-MS in relationship with toxicological data and clinical signs after repeated exposure. *Environmental Research*, **110**, 664-674.
- Winawer, S.J. (2007) Colorectal cancer screening. *Best Practice & Research in Clinical Gastroenterology*, **21**, 1031-1048.

IV.B. Effets des AVKs sur la dynamique des populations de Renard roux

Using long-term monitoring of red fox populations to assess changes in rodent control practices

Marion Jacquot, Michaël Coeurdassier, Geoffroy Couval, Régis Renaude, David Pleydell, Denis Truchetet, Francis Raoul, Patrick Giraudoux.

Journal of Applied Ecology, in press, 2013.

IV.B.1. Summary

1. Pest control is a global issue for agriculture, health, biodiversity conservation and economy. Anticoagulant rodenticides are used over large areas to control rodent pests and can cause widespread poisoning of non-target wildlife. In France, bromadiolone is the only pesticide authorised to control the water vole *Arvicola terrestris* Scherman, in grasslands. Since 2001, legislation has been in place to replace curative treatments by preventive ones and limit the quantity of rodenticide used. As the legislation took effect over time, the impact on red fox *Vulpes vulpes* populations was monitored.

2. Fox populations and bromadiolone treatments were monitored in the Doubs Department (5,000 km² area), France. Fox counts were carried out during spring, and vole control was primarily conducted in autumn. Relative fox densities (Kilometric Abundance Index: KAI) obtained per commune for year n (2004 to 2009) were related to treatments achieved during year $n-1$ (2003 to 2008). Treatments from year $n-2$ were used to investigate possible delayed responses in fox populations.

3. Kilometric Abundance Index of foxes was significantly related to treatment intensities in years $n-1$ and $n-2$. The impact was greatest in a large area (>1,000 km²), where intensive treatments were achieved in 2003. Fox KAI generally remained dramatically low in this area until 2005, after which a partial recovery was observed.

4. The same area was treated again from 2006 to 2008 but with only half the amount of bait per hectare that was used in 2003. These treatments were followed by a moderate decrease in fox populations.

5. *Synthesis and applications:* We have established, for the first time on a regional scale, the negative impact of a rodenticide on fox populations. We have shown that a shift to preventive treatments with reduced anticoagulant rodenticide use is less harmful to fox populations. However, to approach a zero impact, treatments should be reduced further by limitation of bait quantities authorised per hectare and per commune and using alternative methods to chemical control. Long-term monitoring of wildlife populations using index methods can provide valuable information about the adverse effects of pesticides, therefore, we recommend their inclusion in the assessment of pest management practices.

Keywords: anticoagulant rodenticide AVK, bromadiolone, grassland rodent, integrated pest management, large scale impact, pesticide, vertebrate pest, water vole *Arvicola terrestris*.

IV.B.2. Introduction

Pest control is a global issue for health, biodiversity conservation and economy. Indeed, pest species can play a key role in the transmission of infectious diseases to humans and livestock, invasive species can threaten native species and over half of worldwide food production is lost due to pests (Pimentel 2007). Rodents are among the most damaging pests (Singleton *et al.* 2010). Anticoagulant rodenticides (ARs) are the main pesticides used to control them. ARs are one of the most frequently reported causes of wildlife poisonings in Europe (Berny 2007) inhibiting the vitamin K cycle and causing death by haemorrhage. As rodents became resistant to first-generation ARs (e.g. chlorophacinone), second-generation ARs (e.g. bromadiolone and brodifacoum), which are more potent, more persistent and consequently more hazardous for non-target fauna, were developed (Erickson & Urban 2004).

Anticoagulant rodenticides have been used across large areas (thousands of ha) to eradicate invasive rodents from islands or to control agricultural pests. Although systematic eradication of invasive rodents from islands using these pesticides prevented species extinctions and restored ecosystems (Howald *et al.* 2007), significant impacts of ARs on non-target populations have also been reported. For instance, decreases in bird populations (20–100%) were reported following a brodifacoum-baiting program in New Zealand (Empson & Miskelly 1999).

Thus, land managers have to plan delivery methods (e.g. type and timing) of rodenticides to mitigate potential unintended impacts on other species (Howald *et al.* 2007). When islands are small, intensive monitoring of non-target populations can be achieved and their size can be known with precision. For instance, the North Island saddleback *Philesturnus carunculatus rufusater* of Mokoia Island (135 ha) were all colour banded such that survival could be monitored during a poisoning operation (Davidson & Armstrong 2002). Mitigation techniques for vertebrates, (e.g. birds, reptiles, rodents), have been applied successfully (e.g. temporary caging) on small islands. On large islands, which are biologically more complex, the monitoring of non-target impacts remains a challenge (Howald *et al.* 2007).

In the case of agricultural pest control, land managers may have to deal with the potential impacts of ARs on a broader scale than on islands. In Eurasia, for instance, outbreaks of rodents may occur on a regional scale (3,000–10,000 km²) and cause heavy damage to various crops, including cereals and grasslands (Singleton *et al.* 2010). Management decisions to control rodent outbreaks can be poorly informed and irrational treatments occur over large areas. Between 2006 and 2007, an outbreak of the common vole *Microtus arvalis* occurred in agricultural areas of northwestern Spain. Rodenticides were applied over hundreds of thousands of hectares (270,000 ha in 2007), but most vole sub-populations had already collapsed before the third poisoning campaign began. These treatment campaigns resulted in tonnes of toxic bait remaining accessible to non-target species,

causing massive mortality (Olea *et al.* 2009). In many parts of Laos during the last decade, the use of rodenticides—such as coumatetralyl—has become chronic and has drastically reduced the number of domestic animals in villages. Presumably native wildlife also suffers non-target mortality, but nothing is known about the long-term impacts on these species (Singleton *et al.* 2010). ARs may also have contributed to the decline of certain at risk species, such as the red kite *Milvus milvus* (Berny & Gaillet 2008). In most of these cases, the actual impacts of ARs on non-target species were not assessed at the population level, mainly because they could not be easily monitored over such large areas.

In France, bromadiolone is the only pesticide authorised for use to control outbreaks of the water vole *Arvicola terrestris* Scherman in grasslands (Ministère de l'Agriculture et de la Pêche 2002). In the 1990s, hundreds of predators (mainly common buzzard *Buteo buteo*, red fox *Vulpes vulpes* and red kite) died after large-scale treatments (60,000 ha treated) in the Doubs Department (Giraudoux *et al.* 2006). During vole outbreaks, those predators feed almost exclusively on water voles and common voles, and both prey species eat bromadiolone baits (Sage *et al.* 2008). This leads to secondary poisoning of predators in treated areas (Berny *et al.* 1997). Foxes temporarily specialise on grassland voles when those prey are available (Raoul *et al.* 2010) and are relatively sedentary compared to raptors. Therefore, this species appears to be a relevant sentinel species to assess the effects of rodenticide field treatment on predator populations. The French wildlife monitoring scheme, the SAGIR network, reported hundreds of lethal intoxications, which included 164 foxes from 1997 to 2002 (SAGIR unpublished data). From 1989 to 2000, fox populations were monitored using an index method on a local scale of approximately 100 km² (Raoul *et al.* 2003). A sharp decrease in the population index was observed after the 1997–1998 treatments (almost 80,000 ha treated), and the population remained extremely low until 2000. Although the temporal dimension of the decrease was clear, its range and spatial dynamics could not be observed. Since 2001, legislation has prohibited AR application when vole density estimates surpass 200 individuals ha⁻¹; farmers have been encouraged to control voles as early as possible during the early stage of population growth (Ministère de l'Agriculture et de la Pêche 2002). By shifting control efforts to the initial lower density phase of a population outbreak, reduced bromadiolone quantities can be used and control efficiency remains high (90–95% with bait at 0.5 kg ha⁻¹; Delattre & Giraudoux 2009). In the early 2000s, many farmers continued AR applications in areas with high vole population densities, but increasing numbers of farmers adapted their practices over time. Treatment reporting is compulsory and so farmers must report bromadiolone quantities and treatment locations to governmental agencies (Préfecture du Doubs 2007). A database has been set up since 1991 that maintains records of the bromadiolone quantities delivered each year at the resolution of the commune (a French administrative division of approximately 10 km²). In addition, since 2004, as part of a game management scheme, fox populations have been monitored by the Federation des chasseurs du Doubs (a federation of hunting associations in the Doubs Department) over a 5,000 km² area. The time span covered by the databases encompasses two successive *A. terrestris* cycles and includes the period when farmers shifted from the treatment of high population densities to the treatment of low population densities.

This context provides us with a quasi-experimental design at a regional scale that has allowed us to characterise the impacts of bromadiolone field treatments on red fox populations. We addressed the following questions:

1. Is the impact of treatment on fox populations dependent on bromadiolone quantities used, and, if so, were the measures implemented to reduce bromadiolone use sufficient to mitigate the impacts?
2. Is there a delayed impact on fox populations and what is their recovery pattern?

IV.B.3. Materials and methods

IV.B.3.1. Study area and control of rodent outbreaks

The study area is the Doubs Department, an administrative unit of 5,234 km² in eastern France (47.11°N, 6.24°E), divided into 594 communes. Cyclic outbreaks of water voles occur every 5–6 years, mainly on the mid-altitude plateaus of the Jura Mountains (400–900 m altitude, Figure 26). High vole population densities (200–1,000 voles ha⁻¹) persist locally for 1–3 years, dramatically reducing grass production. To control vole populations, field treatments with bromadiolone baits are carried out by farmers, mainly in autumn and, to a lesser extent, in spring and summer. Wheat baits were industrially prepared at a constant concentration of 50 mg kg⁻¹ during the study period. Baits were distributed in artificial linear burrows (details in Sage *et al.* 2008). Legislation limits the quantity of baits used per treated area to a maximum of 20 kg ha⁻¹. Giraudoux *et al.* (1997) reported a spatial asynchrony between population peaks with a subsequent time lag in bromadiolone treatments between different altitudinal areas. The treated area ranged from 2,400 to 17,900 ha year⁻¹ during the study period (2003–2008).

IV.B.3.2. Data collection

IV.B.3.2.a. Assessment of bromadiolone treatments

Bromadiolone treatments are carried out by farmers but require official permission from local authorities (Direction Régionale de l'Agriculture, de l'Alimentation et de la Forêt; DRAAF). Subsequently, the Fédération Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles (FREDON, farmer pest control association) delivers bait to farmer groups and records data on bromadiolone quantities used, areas treated and their locations. The quantity of bait (tonne, t) was used to quantify the intensity of bromadiolone treatment per commune per year. The quantities of bait used are highly accurate because the DRAAF monitors the bait quantities delivered to farmers and these data match the FREDON data.

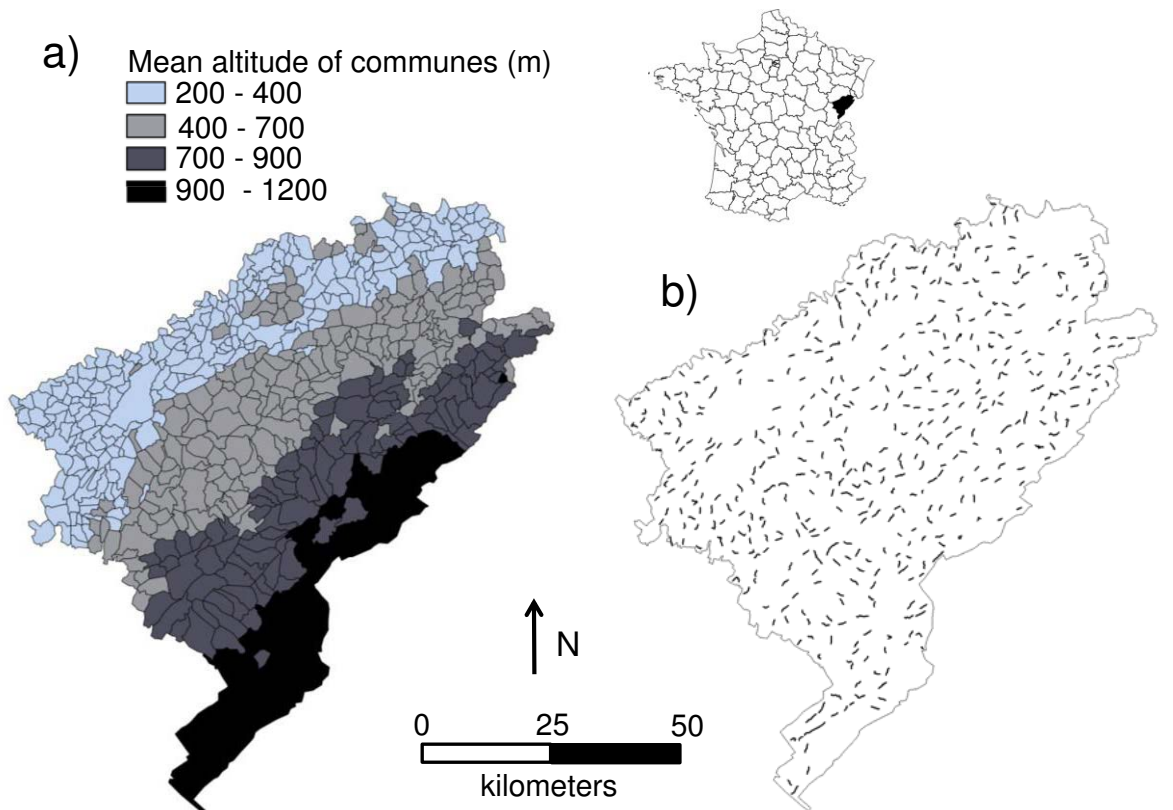


Figure 26. The location of the Doubs Department, distribution of the communes and their mean altitudes (m) (a) and spatial distribution of the red fox count transects (b).

IV.B.3.2.b. Red fox data

Data were provided by the Fédération des Chasseurs du Doubs, a game management association.

Relative densities. Since 2004, fox populations have been monitored using night spotlight counts. Counts were performed along 472 geo-referenced transects, 1–2 km in length, distributed over the Doubs Department (Figure 26). Every spring, counts were performed along each transect over 3–4 nights. These counts were performed at least 1 h after sunset in a car (maximum speed of 20 km h⁻¹) and by 4 people: a driver, a data recorder and 2 observers. Observations were made using 100-W spotlights and binoculars for species identification. Double-counting was unlikely because transects were relatively straight and observers were careful about animal movements. A kilometric abundance index (KAI) was calculated for each transect as the maximum number of red foxes recorded km⁻¹ (thus providing a lower limit for the number of foxes present).

Shooting data. Culling can substantially depress fox numbers (Heydon & Reynolds 2000). Consequently, we investigated whether culling and bromadiolone poisoning could be confounded as causes of decline. Shot fox numbers were collected from hunter reports from each shooting estate in the department from 2003 to 2007 (no data were available for 2008 because a different data collection process was used). Each shooting estate was assigned to a commune, and we computed the (minimum) number of red foxes shot commune⁻¹ year⁻¹ assuming that biases due to unreported shootings, if any, were constant over years.

The red fox is a generalist feeder and its population densities are not influenced by vole population densities in the Jura Mountains (Weber *et al.* 2002). Consequently, we did not include prey density data in our analysis. Moreover, the SAGIR network did not report any major disease outbreaks associated with high fox mortality during the study period.

IV.B.3.3. Data analysis

Relationships between fox KAI and bromadiolone treatments, expressed through bait quantities (tonnes commune⁻¹ year⁻¹), were studied at a commune resolution over the whole department. Ordinary kriging was used to assign a KAI value per commune: KAI values from transects were interpolated on the centroids of communes. Ordinary kriging uses variogram models of spatial autocorrelation to provide spatially weighted estimators that are known to be useful for interpolation (Bivand, Pebesma & Gómez-Rubio 2008). For kriging, KAI were log-transformed to provide a closer approximation to normality. Omnidirectional empirical variograms were computed each year with log-transformed KAI values ($\log(KAI+1)$). Variographic envelopes, which test for potential absence of spatial autocorrelation, were computed by permuting geographical coordinates among KAI records ($n=999$ simulations), re-calculating the empirical variogram for each simulation and plotting the maximum and minimum semi-variance obtained at each lag. Empirical variograms were fitted, using weighted least squares (Cressie 1985), with three correlation functions (exponential, gaussian, spherical) chosen via visual inspection. The variogram model providing the smallest residuals was selected. Kriged interpolations were mapped on a regular grid (2-km mesh).

Fox counts were carried out in spring (March/April) and water vole control treatments were primarily conducted in autumn (September to November). Fox densities (kriged log-transformed KAI, kIKAI) for years n (from 2004 to 2009) in a commune were related to the number of shot foxes in years $n-1$, rodenticide use in years $n-1$ (B1), and rodenticide use in years $n-2$ (B2), thus investigating possible time lag effects of secondary poisoning.

First, we assessed the possible confound of foxes shot (S1) on kIKAI. We fitted a linear mixed effects model with kIKAI of year n as response variable, and the commune and S1 as independent variables. The year was included as a random effect accounting for repeated sampling of fox densities (in the period 2003–2008). Residuals were normal and spatially independent.

The correlation between $kIKAI$ and $S1$ was positive. The number of foxes shot and bromadiolone poisoning could not be confounded as causes of decline. Therefore, we excluded $S1$ and modelled the $kIKAI$ of year n against $B1$ and $B2$. We fitted a panel data model designed to account for spatial dependence between communes in spatial time series data (Kapoor, Kelejian & Prucha 2007). This approach uses a neighbourhood graph to obtain spatial weights which provide a basis for fitting spatial random effects (Millo & Piras 2012; Bivand, Pebesma & Gómez-Rubio 2008). Residuals were checked for normality and empirical variograms were used to test for residual spatial structure.

For mapping bromadiolone quantities, each commune was coloured depending on bromadiolone quantities used.

Statistics and graphical displays were computed using R 2.12.1 (R Development Core Team 2010), the packages *sp* (version 0.9-91, Pebesma & Bivand 2005), *maptools* (version 0.8-10, Lewin-Koh & Bivand 2012), *nlme* (version 3.1-105, Pinheiro *et al.* 2012) and *splm* (version 1.0-00, Millo & Piras 2012).

IV.B.4. Results

IV.B.4.1. The intensity of bromadiolone treatments

Two distinct time periods were observed in the treatment intensity data, each characterised by a first year of intensive treatment followed by two years of less intensive treatment which were not necessarily in the same communes (Figure 28a). In the first period, 2003–2005, 207 tonnes of bait were deposited over 23,811 ha (Table 20). From 2006 to 2008, bait use decreased with 143 tonnes used over a larger area of 27,755 ha. During the study period, treatment was maximal in 2003, with annual bait quantities used over the whole department being at least 3 times greater than during the 2004 to 2008 period and both total treated area and the number of treated communes being 1.5 times larger (Table 20). Bait quantities used per commune showed the same trend. In 2003 treatments reached up to 13.57 tonnes per commune (Figure 28a) and 50% of communes were treated with doses larger than 0.69 t. In later years, treatments reached a maximum of 8.30 t per commune (2009) and the median quantity of used bait never exceeded 0.41 t (2006). The least intensive treatments (in terms of both bait quantities and treated surface area) occurred in 2004 and 2005 (Table 20).

The quantity of bait used per hectare treated was 1.67 times lower during the second period than the first (Table 20): it was at a maximum in 2003 (10 kg ha^{-1}) and decreased to 5 or 6 kg ha^{-1} in later years. In 2003, 50% of communes were treated with doses higher than 8.7 kg ha^{-1} ; in 2004 and 2005, approximately 30% were treated with such doses; and from 2006 to 2008, fewer than 5% were so treated.

Table 20. Bait quantity, surface area treated and number of communes where bromadiolone treatment occurred in the entire Doubs Department from 2003 to 2008.

Year	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Bait Quantity (tonnes)	170	23	14	55	46	42
Area treated (ha)	17858	3568	2385	11972	8930	6853
Number of communes treated	99	48	28	66	49	40

IV.B.4.2. Impacts of the quantity of used bromadiolone on red fox population densities at the communal level

If fox shooting was a driver of fox density, fox density should decrease when shooting increased. Thus, since the number of shot foxes reported was positively and weakly correlated with kIKAI (coefficient = 0.004, $P < 1.10^{-3}$) (Figure 27a), we did not include shooting in further analysis. Communal kIKAI were weakly significantly and negatively related to rodenticide use in year n-1 (coefficient = -0.069 ± 5.10^{-3} , $P < 1.10^{-3}$) and rodenticide use in year n-2 (coefficient = -0.062 ± 5.10^{-3} , $P < 1.10^{-3}$) (Figure 27b). Thus, fox populations were negatively affected by bromadiolone treatments and these effects were detectable more than one year later. The panel data model provided a good fit to the observed values with a pseudo- R^2 of 0.524 (Figure 27c). The fixed effects accounted for 10.8% of the total variance.

In the area that received the most intensive treatment during 2003 (southwest of the department), kIKAI were less than 0.5 (c.-à-d. 0.6 foxes km^{-1}) across more than 1,000 km^2 in 2004 (Figure 28). In 2005, bait use declined yet kIKAI remained lower than 0.5 in a central area of more than 500 km^2 . The KAI needed at least 2 years to recover and in 2006 all kIKAI values in the treated area were greater than or equal to 0.5. During the second treatment period (2006 to 2008), kIKAI of the treated sector was less than 0.5 in 2007 over a 100- km^2 area where bromadiolone was used. Fox densities did not decrease to the same extent as during the 2003-2006 period. In this 100- km^2 area, the quantity of used bait did not exceed 8.4 kg ha^{-1} over 96% of the treated area.

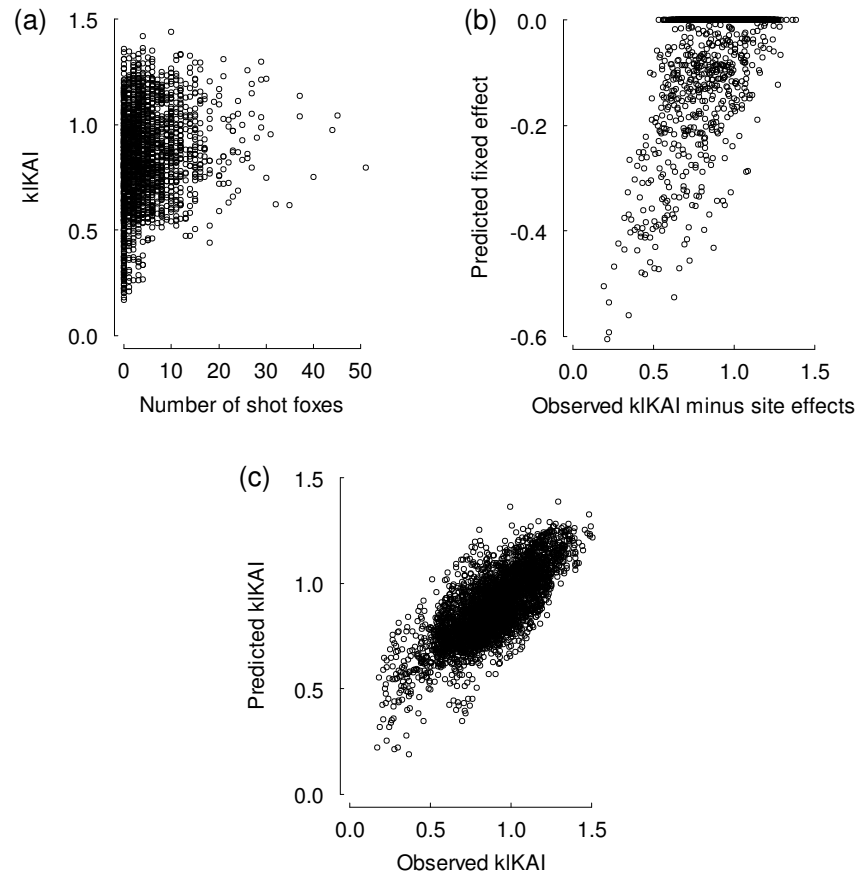


Figure 27. (a) kIKAI (kriged log-transformed red fox KAI values) versus the number of shot foxes, (b) predicted fixed effect (*i.e.* based on bromadiolone use years $n-1$ and $n-2$) versus spatially detrended observed kIKAI, (c) predicted kIKAI versus observed kIKAI.

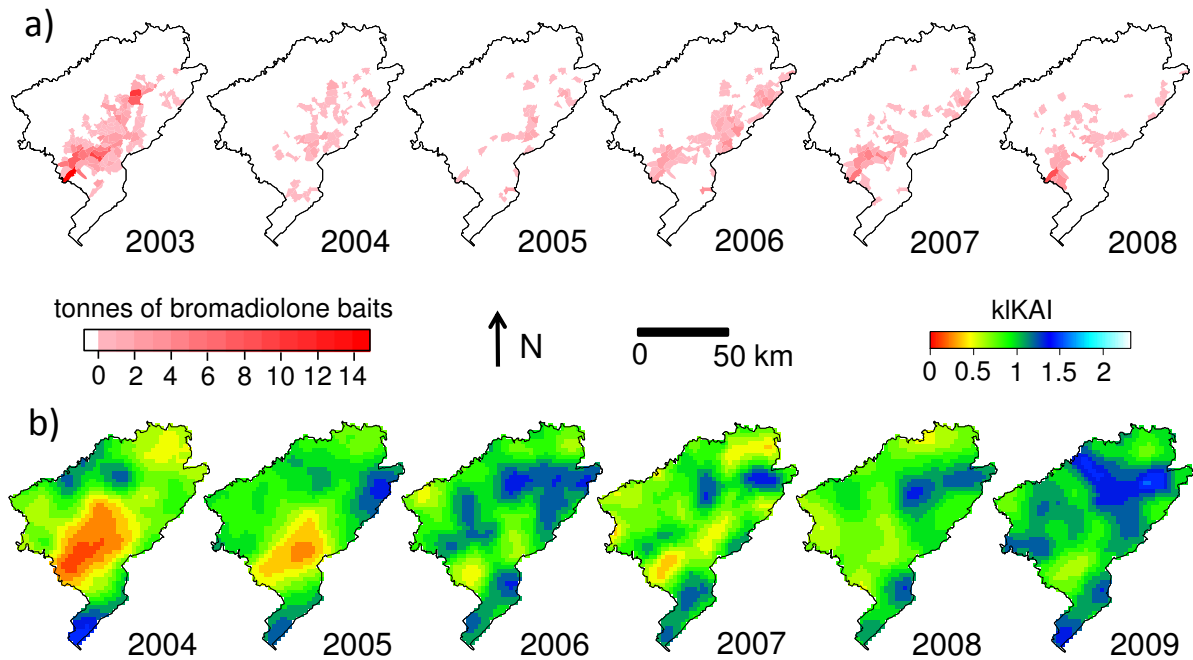


Figure 28. Maps of the Doubs Department of (a) bromadiolone bait quantities per commune (in tonnes) from 2003 to 2008, (b) kIKAI (kriged log-transformed red fox KAI values) from 2004 to 2009.

IV.B.5. Discussion

We have presented correlative evidence that bromadiolone field treatment reduced red fox population densities in the Doubs Department. While the correlative nature of our analyses limits our ability to identify the processes involved in the observed fluctuations in fox density, we can reasonably rule out the influence of some potentially confounds. One confound might be that the baiting reduced vole populations, thereby depleting food availability for foxes and thus indirectly affecting fox populations via bottom-up control. However, such a numerical response of fox populations to prey densities, notably water voles, was not detectable in earlier studies carried out in the Jura Mountains (Delattre & Giraudoux 2009). Moreover, the treated area within a commune rarely exceeds a nominal part of the total grassland area (1–10%), thus prey availability at this scale is not at stake. Fox culling and/or epidemics may also substantially depress fox numbers. In our study, fox culling was positively correlated with KAI, indicating that shooting was not a driver of fox decline. Furthermore, the SAGIR network did not report any major disease events associated with elevated mortality rates during the study period. Finally, no significant quantities of anticoagulants were used to control other rodent species in the studied area.

Visual examination of our maps clearly shows that KAI variation was spatially and temporally structured and indicates considerable similarity between the spatial structures in KAI and treatment intensity, yet the partial R^2 associated with the fixed effect remained low (0.108). Moreover, the spatial random effects, fitted using the neighbourhood graph, explained more of the variation in KAIs than bromadiolone treatments at a communal resolution. This suggests that the spatial autocorrelation model might have absorbed some of the variance originating from the bromadiolone treatment. The low partial R^2 also suggests that important factors other than bromadiolone treatment influenced KAI over this time period. According to studies carried out in our study area or in regions with similar landscapes (mosaics of farmland and woodland), fox feeding behaviour and detectability during night counts should not lead to variability in KAI. Indeed in the Swiss Jura, Meia & Weber (1995) showed that daily distances travelled by foxes did not change despite drastic changes in *A. terrestris* population densities and thus the availability of preferred prey. Moreover, the proportion of time spent by foxes in open and closed habitats should not vary in space and time because foxes are strongly attracted by open areas and grassland small mammal species (Giraudoux 1991, Doubs department; Weber & Meia 1996, Swiss Jura). Ruetten, Stahl & Albaret (2003) measured fox detectability in northeastern France with a protocol similar to ours (spotlighting along transects of approximately 2 km). Despite strong variations in the percentage of forested cover among sites, they concluded that detection rate corrected KAIs were of little interest when spotlighting foxes. Thus, we can reasonably exclude that the high variability in KAI be due to heterogeneity in fox behaviour.

The long-term monitoring of the impacts of ARs on populations of rodent predators on a regional scale, and in a spatially explicit context, is not a general practice in Europe. To our knowledge,

impacts at the population level have only been reported for the red kite after a large-scale control of common vole with chlorophacinone and bromadiolone in Spain (Mougeot, Garcia & Viñuela 2011). In the UK, Shore *et al.* (2003) reported that current usage of ARs did not and would not prevent polecats *Mustela putorius* from further expanding their range in eastern areas of England. Furthermore, no direct relationship was evidenced between the decline of the national populations of the barn owl *Tyto alba* (Shore *et al.* 2005), or the tawny owl *Strix aluco* (Walker *et al.* 2008), and their exposure to ARs in the UK.

The monitoring of AR impacts often relies on carcass collection (e.g. WIIS in UK or SAGIR in France). Due to a short data acquisition time frame, carcass collection can signal the need to urgently cease treatment in response to massive mortality. For instance, bromadiolone treatments were temporarily stopped during the winter 2011/2012 in the Auvergne region (France) after 28 red kites and 16 common buzzards were found poisoned (LPO 2012). However, it is important to question whether the number of poisoned animals collected accurately reflects the impact of ARs on a population. During our study period, 22 foxes were found poisoned in 2003 (SAGIR, unpublished data), the year of most intensive bromadiolone use which was followed by the lowest observed kIKAI values in 2004. However, in subsequent years, treatment intensity decreased and no simple pattern linking poisoned fox numbers to treatment intensity emerges: just 5 foxes were found in 2007 and 2 in 2006, while in 2006 more communes were treated with greater bait quantities. In most cases, carcasses were not actively sought, they were essentially discovered circumstantially, resulting in low numbers and a high noise to signal ratio. Reports of carcasses may depend on the mobilisation of local observers and on carcass detectability (Decors & Mastain 2010). The SAGIR network mainly records acute lethal exposures, and chemical analyses are performed if poisoning is suspected (Berny 2007). Complementary to carcass collection, the type of population monitoring we carried out enabled the detection of an integrated effect of chemicals (c.-à-d. both lethal and sublethal effects). Concerning ARs, if lethal poisoning is evident, sub-lethal impacts on wildlife are rarely documented. Negative correlations between anticoagulant concentrations and body condition suggest that exposure to anticoagulants adversely affects the fitness of stoats *Mustela erminea* and weasels *Mustela nivalis* (Elmeros, Christensen & Lassen 2011); and several raptor species (common kestrel *Falco tinnunculus*, tawny owl and common buzzard) (Pereira 2010). Moreover, some positive relationships between rodenticide exposure and pathogens prevalence have been evidenced for bobcats *Lynx rufus* (Riley *et al.* 2007) and common voles (Vidal *et al.* 2009).

Moreover, our long-term monitoring demonstrates that populations were affected for more than one year, which supports two non-exclusive hypotheses: delayed poisoning and/or a time of longer than 1 year is required for fox population recovery. Regarding delayed poisoning, following the extinction of a local vole population new vole colonisers may be intoxicated 3 months after bromadiolone treatment and some voles with bromadiolone residues may even be trapped after 6 months (Sage 2008). However, the number of foxes found poisoned 1 year after intensive treatments was low (1 fox found in 2004, whereas 22 were found in 2003, SAGIR) suggesting that delayed

exposure is marginal. The other hypothesis relies on the demographic processes involved in fox population recovery. These processes may involve higher recruitment rates into impacted populations due to decreased intraspecific competition. Heydon & Reynolds (2000) showed that a moderate breeding suppression in rural fox populations was associated with a higher density: in an area with 0.79–2.76 foxes km⁻², females produced an average of 4.49 cubs year⁻¹, whereas in an area with densities of 0.14–0.60 fox km⁻², females produced 6.24 cubs year⁻¹. Another process involved in fox population recovery may be the recolonisation of foxes in the impacted area from neighbouring areas that were treated less intensively. This recolonisation is a strong possibility because foxes are able to disperse over considerable distance and, consequently, might swiftly recolonise areas from which they have been removed (Gentle, Saunders & Dickman 2007). We could not determine the time necessary for a total recovery of fox populations because bromadiolone treatments never stopped within the department.

Here, we showed how geo-referenced monitoring of both pesticide use and wildlife populations can permit the assessment of mitigation measures and, thus, may help to improve these measures. In 2011, the use of bromadiolone was re-authorised to control water voles for plant protection until 31 May 2015 (Directive 2011/48/EU), but the European commission requested additional information about the effectiveness of proposed mitigation measures to reduce the risk to wildlife. Even if red fox is not specifically mentioned, we show here that this species is a relevant sentinel to assess the effectiveness of mitigation measures such as those applied in our study area. Since 2002, French legislation has gradually moved to bromadiolone control of voles during sub-threshold population density periods (c.-à-d. surface indices should not exceed 50% of the intervals on line transects performed according to protocols adapted from Giraudoux *et al.* 1995) and a maximum of 20 kg of bait ha⁻¹ year⁻¹. Since 2005, a contract for sustainable control has been proposed to farmers by FREDON. This contract aims to maintain vole population densities at low as possible levels by combining rodenticides and alternative methods such as trapping, habitat destabilisation via ploughing rotations for grasslands, control of moles *Talpa europaea*, (Delattre *et al.* 2006), hedgerow creation for favouring predators and reducing grassland connectivity, and protection of typically unprotected predator species such as foxes (see e.g. Delattre & Giraudoux 2009 for details). During our study period, these methods combined, permitted reductions of at least 66% in total bait quantity applied to fields across the department. Moreover, treatment intensity was decreased from 10 to 5 or 6 kg of bait ha⁻¹. This shift from intensive treatment at relatively high vole densities to treatment at lower densities and the growing use of alternative methods limited the impact on fox populations, which demonstrates the efficiency of the mitigation measures taken to date.

However, field treatments with bromadiolone still damage red fox and other non-target species (Plaquin & Clerc 2009; SAGIR unpublished data), and we propose additional mitigation measures to sustain the trend towards a zero impact on wildlife. The first measure would be to reduce the maximum bait quantity authorised per ha. Sage *et al.* (2008) and Coeurdassier *et al.* (2012) demonstrated that treatments performed at bait densities of 20 kg ha⁻¹ (c.-à-d. the highest quantity

authorised by regulation) presented a high risk to predators of voles. In the present study we showed that fox populations were affected even if less than 8.4 kg ha⁻¹ of bait was used across 96% of the treated area. Just 0.5 kg ha⁻¹ is sufficient to control water voles at very low densities and, based on bromadiolone residues in vole tissue, this level of treatment led to a calculated risk of zero for the fox (Defaut *et al.*; Coeurdassier *et al.* in Delattre & Giraudoux 2009). However, the low water vole density threshold above which foxes readily concentrate on this prey (Raoul *et al.* 2010) suggests that foxes might be exposed to rodenticides while vole densities and treatments are low. Moreover, when present on treated plots, common voles will consume bromadiolone baits (Sage *et al.* 2008) making secondary exposure of foxes likely. This finding supports drastic reductions in treatment intensity to levels lower than those currently permitted by legislation. Moreover, whereas legislation only limits the quantity used per agricultural parcel, our results show that the bait quantities used over the whole commune have negative consequences on fox densities and, thus, should also be considered in legislation. Finally, bromadiolone (and other ARs) is only one of several options available for rodent pest control (Singleton *et al.* 2010). Because bromadiolone is authorised for use in Europe until at least 2015, we believe that it is essential to promote alternative methods of control, including those presented above, and that AR field applications should be limited to farmers contractually engaged in a sustainable integrated management of vole outbreaks.

Ecologically sensitive rodent management has been developed in various agricultural systems, particularly rice-based systems in Asia (Singleton *et al.* 2010). The proposed alternative control strategies rely on the same principles as in the system studied here: collective rodent culling actions at key times in their population cycles and habitat manipulation. Control should be preventive, whereby rodent populations are maintained at manageable levels, and alternatives to rodenticides should be developed. In some countries, this has led to rodenticide reduction (e.g. 50% in Vietnam) but potential benefits for non-target animals were not measured. Simply decreasing rodenticide use does not guarantee removal of non-target impacts – poisoning of endangered species remains possible (SAGIR, unpublished data). Moreover, rodenticides can kill rodent predators (wild and domestics) (Berny *et al.* 1997; Singleton *et al.* 2010) and thus impair biological control of rodents. We consequently recommend implementation of monitoring of appropriate non-target species populations within those systems. Even implementing simple dead body collection protocols can provide valuable complementary information that can improve understanding of how ARs act as drivers of population decline.

IV.B.6. Conclusion

Monitoring red fox population dynamics using a simple index method is relevant for assessing the long-term impacts of bromadiolone field treatments for *A. terrestris* control. In the present study, annual monitoring was performed over a large area courtesy of effective collaboration between

research institutions, game management associations and farmer organisations. The next step is to propose more ambitious mitigation measures seeking to achieve zero impact on wildlife. This monitoring provides an integrated indicator of treatment impacts, which, as a complement to the carcass collection based monitoring scheme, will continue to improve the control of vole outbreaks based on AR use and/or non-chemical methods.

Acknowledgments

We thank volunteer hunters for assisting with roadside counts and our financial partners, the Franche-Comté Region and the Agence Nationale de la Recherche, who sustained the RODENT Program (Agreement n°2009CESA00801). We thank Olivier Mastain, Anouk Decors and Betty Plaquin from the *Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage* for providing us with data from the SAGIR network in the Doubs Department. We are most grateful to Roger Bivand and Gianfranco Piras for their kind guidance in the use of the package *splm* and general estimation with panel data models.

IV.B.7. Bibliography

- Berny, P. (2007) Pesticides and the intoxication of wild animals. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **30**, 93-100.
- Berny, P. & Gaillet, J.R. (2008) Acute poisoning of Red Kites (*Milvus milvus*) in France: data from the SAGIR network. *Journal of Wildlife Diseases*, **44**, 417-426.
- Berny, P., Buronfosse, T., Buronfosse, F., Lamarque, F. & Lorgue, G. (1997) Field evidence of secondary poisoning of foxes (*Vulpes vulpes*) and buzzards (*Buteo buteo*) by bromadiolone, a 4-year survey. *Chemosphere*, **35**, 1817-1829.
- Bivand, R.S., Pebesma, E.J. & Gómez-Rubio, V. (2008) *Applied Spatial Data Analysis with R*, edn. Springer Science+Business Media LLC, New York.
- Coeurdassier, M., Poirson, C., Paul, J., Rieffel, D., Michelat, D., Reymond, D., Legay, P., Giraudoux, P. & Scheiffler, R. (2011) The diet of migrant Red Kites *Milvus milvus* during a Water Vole *Arvicola terrestris* outbreak in eastern France and the associated risk of secondary poisoning by the rodenticide bromadiolone. *Ibis*, **154**, 1-11.
- Cressie, N. (1985) Fitting variogram models by weighted least-squares. *Journal of the International Association for Mathematical Geology*, **17**, 563-586.
- Davidson, R.S. & Armstrong, D.P. (2002) Estimating impacts of poison operations on non-target species using mark-recapture analysis and simulation modelling: an example with saddlebacks. *Biological Conservation*, **105**, 375-381.
- Decors, A. & Mastain, O. (2010) *Wildlife epidemiological surveillance, results of analyses performed from 2006 to 2008 within the framework of the SAGIR network, ONCFS/FNC/FDC network*. National hunting and wildlife agency (ONCFS).
- Delattre, P., Clarac, R., Melis, J., Pleydell, D. & Giraudoux, P. (2006) How moles contribute to colonization success of water voles in grassland: implications for control. *Journal of Applied Ecology*, **43**, 353-359.
- Delattre, P. & Giraudoux, P. (coordinators) (2009) *Le campagnol terrestre, prévention et contrôle des populations*, edn. Edition Quae, Versailles.
- Elmeros, M., Christensen, T.K. & Lassen, P. (2011) Concentrations of anticoagulant rodenticides in stoats *Mustela erminea* and weasels *Mustela nivalis* from Denmark. *Science of the total environment*, **409**, 2373-2378.

- Empson, R.A. & Miskelly, C.M. (1999) The risks, costs and benefits of using brodifacoum to eradicate rats from Kapiti island, New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology*, **23**, 241-254.
- Erickson, W. & Urban, D. (2004) *Potential Risks of Nine Rodenticides to Birds and Nontarget Mammals: A Comparative Approach*. United States Environmental Protection Agency Washington DC 20460.
- Gentle, M.N., Saunders, G.R. & Dickman, C.R. (2007) Poisoning for production: how effective is fox baiting in south-eastern Australia? *Mammal Review*, **37**, 177-190.
- Giraudoux, P. (1991) *Utilisation de l'espace par les hôtes du ténia multiloculaire (Echinococcus multilocularis) : conséquences épidémiologiques*. PhD thesis, Université de Bourgogne.
- Giraudoux, P., Delattre, P., Habert, M., Quere, J.P., Deblay, S., Defaut, R., Duhamel, R., Moissenet, M.F., Salvi, D. & Truchetet, D. (1997) Population dynamics of fossorial water vole (*Arvicola terrestris* scherman): a land usage and landscape perspective. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **66**, 47-60.
- Giraudoux, P., Pradier, B., Delattre, P., Deblay, S., Salvi, D. & Defaut, R. (1995) Estimation of water vole abundance by using surface indices. *Acta Theriologica*, **40**, 77-96.
- Giraudoux, P., Tremolières, C., Barbier, B., Defaut, R., Rieffel, D., Bernard, N., Lucot, E. & Berny, P. (2006) Persistence of bromadiolone anticoagulant rodenticide in *Arvicola terrestris* populations after field control. *Environmental Research*, **102**, 291-298.
- Heydon, M. & Reynolds, J. (2000) Demography of rural foxes (*Vulpes vulpes*) in relation to cull intensity in three contrasting regions of Britain. *Journal of Zoology*, **251**, 265-276.
- Howald, G., Donlan, C.J., Galvan, J.P., Russell, J.C., Parkes, J., Samaniego, A., Wang, Y.W., Veitch, D., Genovesi, P., Pascal, M., Saunders, A. & Tershy, B. (2007) Invasive rodent eradication on islands. *Conservation Biology*, **21**, 1258-1268.
- Kapoor, M., Kelejian, H.H. & Prucha, I.R. (2007) Panel data model with spatially correlated error components. *Journal of Econometrics*, **140**, 97-130.
- LPO (2012) *Le milan royal toujours sous la menace de la bromadiolone*. (in French) <http://www.lpo.fr/communiqu%C3%A9/le-milan-royal-toujours-sous-la-menace-de-la-bromadiolone> [accessed on 06/04/2012]. Ligue de protection des Oiseaux, France.
- Lewin-Koh, N.J. & Bivand, R. (2012) *Package mapproj*. <http://cran.r-project.org/>
- Meia, J.S. & Weber, J.M. (1995) Home ranges and movements of red foxes in central Europe: Stability despite environmental changes. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, **73**, 1960-1966.
- Millo, G. & Piras, G. (2012) splm: Spatial Panel Data Models in R. *Journal of Statistical Software*, **47**, 1-38.
- Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (2002) Arrêté ministériel du 17 décembre 2001 relatif aux conditions d'emploi de la bromadiolone pour la lutte contre le campagnol terrestre. *J.O*, n° **25 du 30 janvier 2002**, 2015-2016.
- Mougeot, F., Garcia, J.T. & Viñuela, J. (2011) Breeding biology, behaviour, diet and conservation of the red kite (*Milvus milvus*), with particular emphasis on Mediterranean populations in Ecology and conservation of European dwelling forest raptors and owls. *Ecology and conservation of European dwelling forest raptors and owls*. (eds. I. Zuberogitia & J.E. Martínez), pp. 190-204. Editorial Diputación Foral de Vizcaya, Bilbao Spain.
- Olea, P.P., Sanchez-Barbudo, I.S., Vinuela, J., Barja, I., Mateo-Tomas, P., Pineiro, A., Mateo, R. & Purroy, F.J. (2009) Lack of scientific evidence and precautionary principle in massive release of rodenticides threatens biodiversity: old lessons need new reflections. *Environmental Conservation*, **36**, 1-4.
- Pebesma, E.J. & Bivand, R.S. (2005) Classes and methods for spatial data in R. *R News*, **5**, 9-13.
- Pereira, F. (2010) *Incidência de rodenticidas em aves de rapina: estudo de prevalência e possíveis efeitos secundários*. PhD thesis, Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária.

- Pimentel, D. (2007) *Encyclopedia of Pest Management*. Volume II, edn. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D. and the R Development Core Team (2012). *nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*. R package version 3.1-105.
- Plaquin, B. & Clerc, D. (2009) *RESEAU SAGIR: suivi sanitaire de la faune sauvage bilan 2008, département du DOUBS*. Office National de la Faune Sauvage et Fédération Départementale des Chasseurs du Doubs.
- Préfecture du Doubs (2007) Arrêté n° 2007-2802-01100. Arrêté relatif à la lutte contre le Campagnol Terrestre (*Arvicola Terrestris* L.) en particulier aux conditions d'emploi de la bromadiolone dans les communes du département du Doubs.
- R Development Core Team (2010) *A Language and Environment for Statistical Computing*. Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>.
- Raoul, F., Deplazes, P., Rieffel, D., Lambert, J.C. & Giraudoux, P. (2010) Predator dietary response to prey density variation and consequences for cestode transmission. *Oecologia*, **164**, 129-139.
- Raoul, F., Michelat, D., Ordinaire, M., Decote, Y., Aubert, M., Delattre, P., Deplazes, P. & Giraudoux, P. (2003) *Echinococcus multilocularis*: secondary poisoning of fox population during a vole outbreak reduces environmental contamination in a high endemicity area. *International Journal for Parasitology*, **33**, 945-954.
- Riley, S.P.D., Bromley, C., Poppenga, R.H., Uzal, F.A., Whited, L. & Sauvajot, R.M. (2007) Anticoagulant exposure and notoedric mange in bobcats and mountain lions in urban southern California. *Journal of Wildlife Management*, **71**, 1874-1884.
- Ruette, S., Stahl, P. & Albaret, M. (2003) Applying distance-sampling methods to spotlight counts of red foxes. *Journal of Applied Ecology*, **40**, 32-43.
- SAGIR (unpublished data) *Traitements bromadiolone et évolution de la mortalité de la faune non cible dans le département du Doubs de 1997 à 2008*. Office National de la Chasse et de la Faune sauvage.
- Sage, M. (2008) *Transfert de bromadiolone (appâts/sols – campagnols de prairie – renards) : Etude environnementale de la persistance et mesure indirecte de l'exposition*. PhD thesis, Université de Franche-Comté.
- Sage, M., Coeurdassier, M., Defaut, R., Gimbert, F., Berny, P. & Giraudoux, P. (2008) Kinetics of bromadiolone in rodent populations and implications for predators after field control of the water vole, *Arvicola terrestris*. *Science of the Total Environment*, **407**, 211-222.
- Shore, R.F., Birks, J.D.S., Afsar, A., Wienburg, C.L. & Kitchener, A.C. (2003) Spatial and temporal analysis of second-generation anticoagulant rodenticide residues in polecats (*Mustela putorius*) from throughout their range in Britain, 1992-1999. *Environmental Pollution*, **122**, 183-193.
- Shore, R.F., Malcolm, H.M., Wienburg, C.L., Walker, L.A., Turk, A. & Horne, J.A. (2005) Wildlife and pollution: 2001/02 Annual report. *Joint Nature Conservation Committee*, **352**, 26 p.
- Singleton, G.R., Belmain, S.R., Brown, P.R. & Hardy, B. (2010) *Rodent outbreaks: Ecology and Impacts*, edn. International Rice Research Institute, Los Banos (Philippines).
- Vidal, D., Alzaga, V., Luque-Larena, J.J., Mateo, R., Arroyo, L. & Vinuela, J. (2009) Possible interaction between a rodenticide treatment and a pathogen in common vole (*Microtus arvalis*) during a population peak. *Science of the Total Environment*, **408**, 267-271.
- Walker, L.A., Turk, A., Long, S.M., Wienburg, C.L., Best, J. & Shore, R.F. (2008) Second generation anticoagulant rodenticides in tawny owls (*Strix aluco*) from Great Britain. *Science of The Total Environment*, **392**, 93-98.
- Weber, J.M. & Meia, J.S. (1996) Habitat use by the red fox *Vulpes vulpes* in a mountainous area. *Ethology Ecology & Evolution*, **8**, 223-232.
- Weber, J.M., Aubry, S., Ferrari, N., Fischer, C., Feller, N.L., Meia, J.S. & Meyer, S. (2002) Population changes of different predators during a water vole cycle in a central European mountainous habitat. *Ecography*, **25**, 95-101.

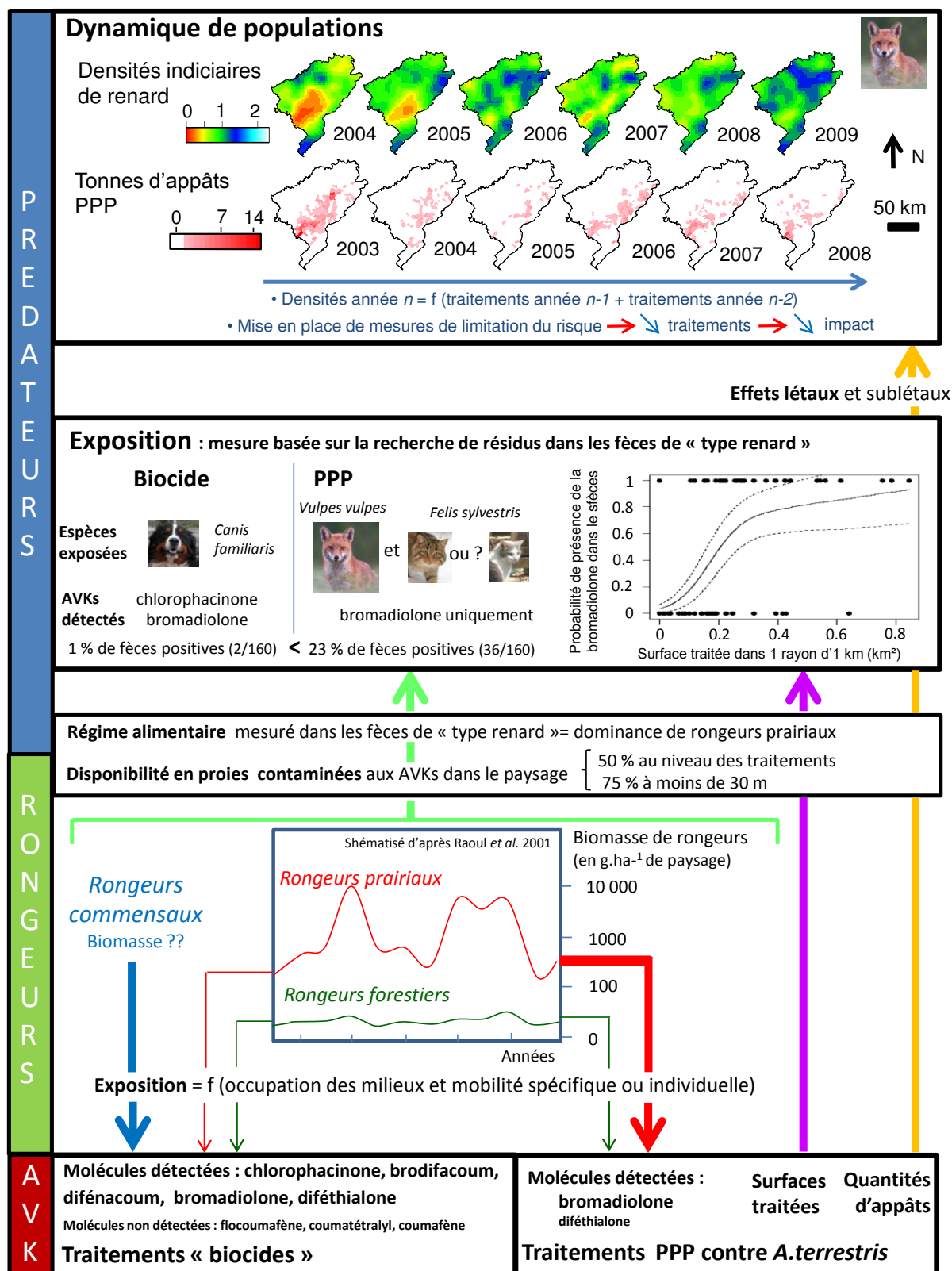
V. Discussion générale

V.1. Usage des AVKs et conséquences en terme d'exposition et d'effets pour les populations de renard

Nos travaux apportent des éléments permettant de mieux caractériser le transfert des AVKs vers le Renard roux dans 2 situations de lutte contrastées. Dans la première situation les AVKs sont uniquement utilisés pour un usage biocide ou pour un usage PPP par les jardiniers amateurs (usages qu'on regroupera sous le terme de biocides par la suite). Dans la seconde situation les usages biocides coexistent avec l'usage en plein champs d'un AVK, la bromadiolone, qui est utilisée pour lutter contre le Campagnol terrestre. Dans les systèmes écologiques étudiés ici, la disponibilité pour les prédateurs en rongeurs prairiaux (Campagnols terrestres et des champs) est plus grande que celle des *Murinae* (mulots et commensaux) ou du Campagnol roussâtre ; qui représentent des biomasses plus faibles et/ou sont moins accessibles (Raoul *et al.* 2001). Ceci aboutit à un prélèvement préférentiel des rongeurs prairiaux par le renard (Raoul *et al.* 2010 et Figure 29) ; dont l'exposition aux AVKs est ainsi, en lien avec la contamination aux AVKs des Campagnols terrestre et des champs, plus grande dans un contexte PPP que biocide (Figure 29).

V.1.1. Contexte PPP

Dans un contexte PPP, la bromadiolone est la principale molécule retrouvée dans les rongeurs et les fèces de carnivores échantillonnés (Figure 29) et les effets de cette molécule sur la faune non-cible doivent donc être évalués prioritairement à ceux des autres AVKs. Nous montrons que la contamination à la bromadiolone des fèces de « type renard » est dépendante des surfaces PPP traitées dans un rayon d'1 km autour du point de collecte (chapitre III ; Figure 29) soit dans une surface correspondant à la taille maximale du domaine vital du renard dans des écosystèmes proches (Artois 1989 ; Meia & Weber 1995 ; Henry, Poulle & Roeder 2005). Les fèces de renard étaient les plus retrouvées parmi celles collectées et nous pouvons ainsi proposer un seuil d'exposition pour cette espèce ; au-delà d'une surface traitée dépassant 0,45 km² dans un rayon d'1 km autour du point de dépôt d'une fèces (soit 15% de la surface maximale du domaine vital du renard dans ce type de système), les fèces sont presque systématiquement contaminées à la bromadiolone. Par ailleurs, nos travaux mettent en évidence que les traitements faits sur la surface d'une commune se répercutent négativement sur les densités de renard à cette échelle ; et cet effet est mesurable pendant plus d'un an (chapitre IV.B ; Figure 29). Le renard apparaît ainsi comme une espèce sentinelle appropriée pour mesurer les effets de la mise en place de mesures de limitation du risque dans le cadre de la lutte contre le Campagnol terrestre en plein champs. Nous avons pu montrer que l'encadrement et la surveillance des modes d'application des appâts rodenticides ont contribué, avec la mise en place d'une lutte intégrée et préventive (voir la Figure 6 de l'introduction générale pour un schéma récapitulatif de la stratégie de lutte), à la réduction des effets non intentionnels des traitements sur les populations de ce prédateur (chapitre IV.B ; Figure 29). Les protocoles de collecte des données



Les traitements « biocides » correspondent aux traitements qui ne sont pas faits en plein champs pour lutter contre le campagnol terrestre ; c.-à-d. essentiellement des traitements faits dans ou à proximité des bâtiments. Rongeurs prairiaux : Campagnol terrestre *Arvicola terrestris* et Campagnol des champs *Microtus arvalis*, rongeurs forestiers : Mulots *sp Apodemus sp* et Campagnol roussâtre *Myodes glareolus*, rongeurs commensaux : Rat surmulot *Rattus norvegicus* et Souris domestique *Mus musculus domestica*. Biomasse relative des rongeurs prairiaux et forestiers schématisée d'après : Raoul *et al.* 2001

Figure 29. Présentation synthétique des principaux résultats du mémoire.

utilisées (suivi des traitements bromadiolone et suivi indiciaire des populations de renard par comptage au phare) sont encore appliqués à l'heure actuelle ; ce qui permet d'envisager un suivi futur de l'évolution des pratiques de traitement contre le Campagnol terrestre. Ces pratiques sont en effet susceptibles d'évoluer prochainement puisqu'un nouvel arrêté ministériel visant à encadrer la lutte contre les espèces de rongeurs nuisibles aux cultures est en préparation (Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt 2012).

V.1.2. Contexte biocide

Dans un contexte biocide nos travaux sont les premiers à caractériser, à l'échelle du paysage, la distribution des AVKs dans l'ensemble de la communauté de rongeurs (Figure 29). En lien avec la contamination de leurs proies, les niveaux d'exposition des renards sont, dans ce contexte et d'après la mesure des résidus d'AVKs dans les fèces de « type renard », plus faibles que dans un contexte PPP (Figure 29). A l'heure actuelle nous ne disposons d'aucune méthode pour tirer les conséquences, en termes d'effets sur les populations, des niveaux d'exposition mesurés dans les fèces. Sur la base des données de contamination des rongeurs (chapitre II), nous pouvons cependant évaluer les doses auxquelles sont exposés les renards dans ce contexte (Tableau 21) et les comparer aux doses conduisant à des effets toxiques lors des tests en captivité.

Tableau 21. Récapitulatif des données permettant d'estimer, sous l'hypothèse d'un prélèvement au hasard des rongeurs, la fréquence d'ingestion de rongeurs exposés aux AVKs par les renards dans un contexte biocide et les doses d'AVKs correspondantes ingérées ($\mu\text{g}/\text{kg}$ de masse corporelle).

	Valeur	Source
quantité de nourriture ingérée / jour	500 g	Artois 1989
part de rongeurs en biomasse dans le régime	~ 75% soit 375 g	Lanszki & Heltai 2002 ⁶
masse rongeurs	16 - 50 g	Quéré et le Louarn 2011
nombre de rongeurs consommés par jour	8 à 23	
% de rongeurs exposés	3 à 6 % soit 1/33 ou 1/17	chapitre II
fréquence théorique d'ingestion de rongeurs exposés	1 à 5 jours	
quantités d'AVKs dans les rongeurs	0,025 à 2 μg	chapitre II
masse renard	6,5 kg	Artois 1989
dose reçue pour l'ingestion d'1 rongeur exposé aux AVKs	0,004 à 0,3 $\mu\text{g}/\text{kg m.c.}$	

⁶ Les données de régime alimentaire du renard disponibles en contexte biocide en Franche-Comté correspondent aux fréquences d'occurrence des restes alimentaires dans les fèces (Raoul *et al.* 2010). En l'absence d'estimation du volume des différents items dans les fèces (voir par exemple Balestrieri *et al.* 2011), il apparaît délicat d'évaluer la part de biomasse ingérée par les renards qui correspond à des rongeurs dans ce contexte. Afin de considérer un risque maximal, l'estimation la plus haute de la biomasse ingérée de rongeurs (Lanszki & Heltai 2002) trouvée dans la littérature pour des écosystèmes proches (Cavallini & Volpi 1995 ; Lanszki & Heltai 2002 ; Padial, Avila & Gil-Sanchez 2002 ; Russell & Storch 2004 ; Sidorovich, Sidorovich & Krasko 2010 ; Balestrieri, Remonti & Prigioni 2011 ; Ferreras *et al.* 2011 ; Kidawa & Kowalczyk 2011 ; Bassi *et al.* 2012) a été utilisée.

Ainsi, un renard adulte, s'il prélève les rongeurs au hasard dans le paysage, est susceptible de consommer un rongeur contaminé donc des doses de l'ordre de 10^{-1} à 10^{-3} µg d'AVKs/kg de masse corporelle tous les 1 à 5 jours. Les tests de toxicité en conditions contrôlées portant sur des effets sublétaux s'intéressent essentiellement aux effets sur la reproduction et des effets sont notés pour des doses d'AVKs de l'ordre du µg/ kg (voir l'introduction générale § I.5.3.b.). Par exemple, l'ingestion pendant 10 jours de doses au moins égales à 12,5 µg/kg de chlorophacinone / jour par une femelle de rat gestante entraîne des malformations de l'embryon. D'après nos calculs, les doses d'AVKs ingérées par les renards lors de la consommation d'un rongeur exposé aux AVKs sont donc 10 à 1000 fois inférieures aux doses, administrées pendant des périodes d'au moins 9 jours, qui conduisent à des effets sublétaux. Considérant qu'un renard est exposé durant toute sa vie à ces doses d'AVKs, qu'il ingérerait selon nos calculs tous les 1 à 5 jours, on peut supposer que des effets des AVKs sur les populations de renard pourraient exister dans ce contexte.

Cependant une telle comparaison suscite plusieurs questions. Tout d'abord, les tests de toxicité portent sur des espèces (rats et lapins pour les mammifères) dont la représentativité vis-à-vis des carnivores n'a, à notre connaissance, jamais été testée. Or, chez les oiseaux, les espèces utilisées pour les tests en captivité (Colin de virginie *Colinus virginianus* et Canard colvert *Anas platyrhynchos*) seraient moins sensibles aux AVKs que les rapaces (Rattner *et al.* 2011). Par ailleurs, lors de la construction d'un scénario d'exposition chez le renard, on peut par exemple supposer que les effets sublétaux des AVKs sur la reproduction sont limités par le fait que la gestation et l'allaitement des jeunes s'étalent sur une période (fin du mois de janvier à la fin du mois de juin dans le nord-est de la France (Artois 1989) ; où d'après les études au Royaume-Uni, les traitements AVKs biocides ne sont pas les plus intensifs (Dawson & Garthwaite 2001 ; Tosh *et al.* 2011). Cependant le risque d'exposition est augmenté pour les femelles en lactation et les renardeaux puisqu'ils consomment de plus grande quantité de nourriture avec des moyennes respectives de 690 et 930 g (contre 500 g en moyenne chez l'adulte ; Artois 1989). L'évaluation des doses d'AVKs ingérées par les renards doit donc être faite en considérant le statut reproducteur ou l'âge des individus. De plus, la susceptibilité des mammifères aux AVKs semble différente selon les classes d'âge. Les AVKs passent de la mère au fœtus par la barrière placentaire (Munday & Thompson 2003) et la question de la transmission des AVKs de la mère au nouveau-né par le lait reste ouverte ; notamment pour les SGARs (Gabriel *et al.* 2012). Or, les fœtus et les nouveaux-nés seraient plus sensibles aux AVKs que les adultes, comme observé par exemple chez le chien (Salmon & Marsh 1979 ; Munday & Thompson 2003). Ceci pour plusieurs raisons ; l'immaturité des systèmes d'élimination des AVKs chez le fœtus (montré chez l'Homme ; Bajoria, Sooranna & Contractor 1996), le faible taux de transfert de la vitamine K à travers la barrière placentaire et donc une absence de compensation des déficits au cours de la grossesse (montré chez l'Homme ; Menger *et al.* 1997) et enfin le déficit des nouveau-nés en facteurs de coagulation (montré chez le chien ; Massicotte, Mitchell & Andrew 1986). Enfin, le scénario d'un prélèvement au hasard des proies intoxiquées n'est pas adapté pour des espèces territoriales comme le renard ; si le territoire d'un individu inclut un site traité, il sera susceptible de prélever plusieurs proies intoxiquées dans un laps de temps plus court. La modélisation du transfert trophique des AVKs devrait également prendre en compte les réponses fonctionnelles des prédateurs ; le renard

augmente par exemple sa consommation de certaines espèces proies de rongeurs avec l'augmentation de leur abondance (Raoul *et al.* 2010) et adapterait sa consommation de rongeurs en fonction du cortège de proies disponibles (Tosh *et al.* 2011).

Ainsi, en nature, les cycles de vie et la variabilité des comportements alimentaires et d'occupation de l'espace des individus compliquent la construction et l'interprétation des scénarios d'exposition. Nos travaux permettent donc de mieux caractériser le transfert des AVKs vers le renard dans un contexte biocide; mais il n'est pas possible en l'état des connaissances d'en tirer les conséquences en termes d'effets sur les populations de cette espèce.

V.2. Quelle surveillance mettre en place pour évaluer l'exposition des prédateurs aux AVKs et les effets qui en découlent sur leurs populations ?

IV.2.1. Position du problème

Dans les fermes franc-comtoises comme aux îles Kerguelen ou encore dans les champs de céréales en Australie, les plantations de riz en Asie, ou encore les égouts des grandes villes Nord-Américaines, le contrôle des populations de rongeurs est une nécessité. Si les stratégies de lutte sont de plus en plus intégrées, la lutte chimique aux AVKs reste souvent la principale méthode de lutte envisagée. Or la contamination des chaînes trophiques aux AVKs est généralisée et ne se limite pas aux seuls réseaux reposant sur les rongeurs. Les taux d'exposition de l'Epervier d'Europe *Accipiter nisus* et du Faucon pèlerin *Falco peregrinus* sont par exemple de 37 et 24 %, respectivement, en Ecosse (Hughes *et al.* 2013) alors que ces prédateurs se nourrissent presque exclusivement d'oiseaux (eux-mêmes consommateurs primaires des appâts ou consommateurs d'invertébrés contaminés par les AVKs). Si les preuves des effets des AVKs sur les dynamiques de population de prédateurs sont limitées, les premières preuves d'effets sublétaux sont apportées en nature (Riley *et al.* 2007 ; Pereira 2010 ; Elmeros, Christensen & Lassen 2011) ; ce qui indique que les AVKs contribuent à fragiliser l'état de santé des populations de prédateurs. De plus, les phénomènes de résistance des rongeurs entraînent l'utilisation de molécules de plus en plus efficaces contre les rongeurs, c'est-à-dire plus toxiques. Or, à l'heure actuelle, les dispositifs pour évaluer et pour faire évoluer les pratiques sont encore en cours de développement. Il est ainsi urgent d'instaurer un suivi des usages des rodenticides couplé au suivi de l'exposition et des effets qui en découlent pour la faune non-cible.

Les échelles temporelles et spatiales auxquelles cette évaluation doit être envisagée rendent complexe sa mise en place. Dans un contexte de lutte PPP, nos travaux montrent qu'un dispositif d'évaluation peut être instauré à une échelle régionale à travers des collaborations entre les acteurs locaux, les administratifs et les scientifiques. Dans un contexte biocide, la situation est complexe : 8 molécules sont disponibles dont la toxicité diffère et la vente est inégale, les utilisateurs de ces molécules peuvent être des professionnels (dératiseurs) comme des amateurs (Figure 30). A cela

s'ajoute une variabilité des lieux traités (égouts, intérieur des habitations, traitements extérieurs,...), des communautés de rongeurs présentes, et donc de réponse des prédateurs (Figure 30). Comment, dans un contexte où une multiplicité de facteurs est en jeu (Figure 30), évaluer, chez les prédateurs, l'exposition et les effets qui résultent des traitements rodenticides biocides ?

Sur la base de nos travaux (chapitres III et IV notamment) nous pouvons proposer un dispositif dans un contexte PPP qui est quasi-opérationnel en termes de protocole à mettre en place et de réseau sur lequel s'appuyer. Dans un contexte biocide, nous pouvons proposer les pistes de développement d'un tel dispositif.

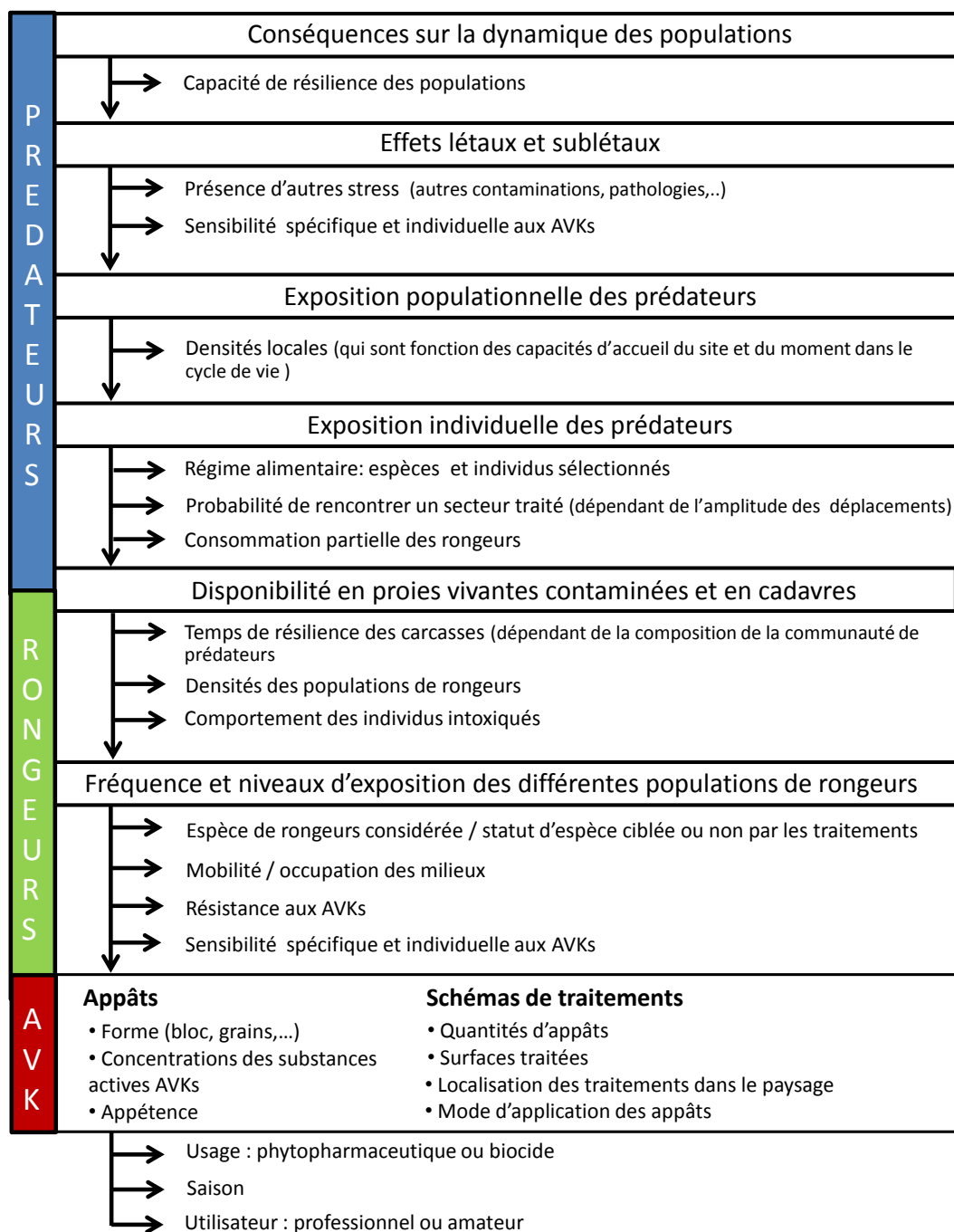


Figure 30. Facteurs régulant le transfert des AVKs vers les populations de rongeurs et de prédateurs et les effets des AVKs sur les populations de prédateurs.

V.2.2. Que faut-il surveiller ?

V.2.2.a. Les besoins réglementaires en Europe

L'Europe envisage une évaluation comparative des AVKs utilisés à partir de fin 2014. A l'heure actuelle le suivi de l'exposition et donc l'évaluation des effets non-cibles des AVKs est dépendant des analyses dans les cadavres et aucune traçabilité des usages biocides n'existe.

Dans un contexte de lutte biocide, un ensemble de mesures de limitation du risque de transfert vers la faune non-cible est préconisé en Europe (pour un récapitulatif voir le Tableau 22). Ces mesures semblent efficaces puisque, grâce à leur mise en œuvre stricte, les fortes quantités de rodenticides utilisées dans le cadre du contrôle des populations de rongeurs lors d'une épidémie de fièvre aphteuse au Royaume-Uni n'ont pas engendré d'augmentation de l'exposition des prédateurs aux AVKs (Shore *et al.* 2006). Certains pays, dans le but d'une meilleure application de ces mesures ont par exemple décidé de restreindre l'utilisation des AVKs aux professionnels (Tableau 22). Cependant, en termes de transfert aux prédateurs, la restriction de l'usage des AVKs à des professionnels est à double tranchant. Si, cette restriction aboutit théoriquement à une meilleure application des mesures de limitation du risque (Health and Safety Executive 2012), elle permet difficilement une surveillance soutenue des sites traités, ce qui compromet la collecte régulière des cadavres empoisonnés et la détection des rongeurs à de faibles densités pour un traitement le plus préventif possible. Cet exemple montre qu'il est nécessaire de suivre les conséquences des différentes stratégies retenues pour limiter le transfert des AVKs vers la faune non-cible.

Il apparaît donc indispensable de mettre en place un dispositif permettant de mettre en relation les usages de ces molécules avec l'exposition et les effets sur les prédateurs de rongeurs ceci afin de pouvoir :

- comparer le transfert des différents AVKs vers les prédateurs et les effets associés dans les 2 contextes d'usage des AVKs
- définir les conditions favorisant ou au contraire défavorisant le transfert des AVKs vers les populations de prédateurs avec la possibilité de comparer notamment :
 - les stratégies retenues par les différents Etats Membres pour la mise en place des mesures de limitation du risque
 - les situations écologiques (cortèges de proies disponibles et consommation par les prédateurs)

V.2.2.b. Les effets sublétaux des AVKs

Dans des contextes d'utilisation biocide des AVKs, les fréquences élevées d'exposition des prédateurs à des niveaux d'exposition sublétaux rendent prioritaires la surveillance de ces effets. Dans des contextes PPP, la lutte intégrée permet de diminuer les quantités d'AVKs utilisées mais le maintien des populations de rongeurs à de faibles densités aboutirait, dans des écosystèmes favorables à leur pullulation, à une lutte quasi continue. Quels seraient alors dans ce contexte les effets sur les populations de prédateurs d'une exposition chronique à de faibles doses d'AVKs ? D'après les tests en captivité et les études en nature, les effets sublétaux des AVKs concerneraient essentiellement les capacités reproductrices des animaux, leur sensibilité aux pathogènes ainsi que la solidité de leur squelette.

Les effets des AVKs sur le recrutement des jeunes ont été peu recherchés en nature. Dans un contexte de traitements biocides (département du Doubs), aucun lien n'a pu être fait entre les niveaux d'exposition aux AVKs des juvéniles de milans royaux et les marqueurs de santé individuelle (condition corporelle, hématocrite) ou populationnelle (productivité de la nichée) (Montaz 2013). Cependant dans les plantations de palmier à huile en Malaisie, l'application de coumafène et de brodifacoum entraîne une diminution de la masse ou des mesures anatomiques (longueur du culmen, du tarse, de l'aile et de la queue) des juvéniles de chouettes effraies (Naim *et al.* 2010). Les auteurs interprètent cela par une action combinée d'un déficit en nourriture sur les sites traités (mort des proies suite aux traitements) et des effets de l'empoisonnement aux AVKs. L'existence d'effets directs des AVKs sur la reproduction des prédateurs ne peut donc à l'heure actuelle être écartée.

En nature, l'exposition des organismes à une contamination chimique sublétales peut les rendre plus sensibles à d'autres stress ; par exemple aux infections parasitaires (Holmstrup *et al.* 2010 ; Vidau *et al.* 2011). Un tel phénomène a été mis en évidence pour les AVKs chez le Lynx roux *Lynx rufus* ; les individus infectés par la galle notoédrique sont aussi ceux les plus exposés à ces molécules. Cette maladie n'entraîne des effets létaux que lorsqu'elle est associée à d'autres stress ; et dans cette étude tous les individus morts d'infection (n=19) étaient exposés aux AVKs (Riley *et al.* 2007). De même chez la Grande Outarde *Otis tarda*, la charge parasitaire des individus augmente avec leur niveau d'exposition à la chlorophacinone (Lemus *et al.* 2011). Les niveaux d'exposition entraînant la mort peuvent par ailleurs être abaissés chez les individus parasités ; chez des campagnols des champs morts d'intoxication, les concentrations de chlorophacinone sont plus faibles chez les individus porteurs de la tularémie *Francisella tularensis* que chez les animaux non infestés (Vidal *et al.* 2009).

Enfin, l'effet sublétales d'une contamination aux AVKs sur la fragilité des os mériterait d'être mieux caractérisé ; seuls Knopper *et al.* (2007) ont évalué ces effets en nature et aucun lien n'a pu être fait entre la fragilité des os et l'exposition aux AVKs de rapaces. Cependant, lors du prélèvement d'animaux en nature il n'est pas possible lors de la mesure de fragilité des os à un instant t de prendre

Tableau 22. Récapitulatif des mesures à mettre en place pour limiter le transfert des AVKs aux organismes non-cibles lors de l'utilisation des AVKs dans un cadre biocide (lutte contre les commensaux essentiellement), ainsi que des dispositifs et les freins associés à leur mise en place.

Mesures à mettre en place	Références associées
<ul style="list-style-type: none"> choix de la molécule en fonction de leur toxicité et de la résistance des rongeurs 	(Buckle <i>et al.</i> 2013 ; Health and Safety Executive 2012)
<ul style="list-style-type: none"> ajuster les quantités utilisées aux densités des rongeurs 	(Commission Directive 98/8/EC. 2008)
<ul style="list-style-type: none"> utilisation de dispositif de protection des appâts (e.g. boîtes d'appâtage sécurisées) ou placement dans des endroits inaccessibles aux animaux non-cibles 	(European Commission 2007)
<ul style="list-style-type: none"> durée maximale des campagnes (par exemple 35 jours au Royaume-Uni), enlèvement des appâts en fin de campagne 	(Health and Safety Executive 2012 ; European Commission 2007)
<ul style="list-style-type: none"> collecte des cadavres dans une fenêtre temporelle où ont théoriquement lieu le maximum d'intoxications 	(European Commission 2007 ; Health and Safety Executive 2012)
<ul style="list-style-type: none"> mise en place de méthodes de lutte alternatives à la lutte chimique 	
Principes de ces mesures	
<ul style="list-style-type: none"> les méthodes de lutte alternative à la lutte chimique doivent être privilégiées (manipulation des habitats) 	(Lambert <i>et al.</i> 2008)
<ul style="list-style-type: none"> la lutte chimique doit se faire dès l'apparition des rongeurs afin de limiter les quantités d'AVKs utilisées 	(Brakes & Smith 2005)
<ul style="list-style-type: none"> l'utilisation de molécules auxquelles les rongeurs sont résistants ou de quantités d'appâts insuffisante pour éliminer les populations augmente la durée des campagnes de traitements et / ou les quantités utilisées et donc le transfert 	(Health and Safety Executive 2012 ; Shore <i>et al.</i> 2013 ; Meyer 2012)
Dispositifs adoptés pour favoriser leur mise en place	
<ul style="list-style-type: none"> restriction de l'usage des AVKs aux professionnels 	(Commission Européenne 2012ab)
<ul style="list-style-type: none"> formation des professionnels 	(CRRU 2013)
Difficultés liées à leur mise en place	
<ul style="list-style-type: none"> évaluation difficile des densités des rongeurs commensaux / détection difficile des faibles densités 	(Cavia, Cueto & Suárez 2012 ; Gras, Patergnani & Farina 2012)
<ul style="list-style-type: none"> pas de restriction possible à un usage professionnel (e.g. réseau limité, pas de remboursement par les assurances) 	(Commission Européenne 2012ab)
<ul style="list-style-type: none"> nécessité du suivi des sites traités 	(Health and Safety Executive 2012)
<ul style="list-style-type: none"> néophobie des rongeurs envers les dispositifs de protection des appâts 	(Health and Safety Executive 2012)

en compte les effets d'expositions anciennes (AVKs déjà excrétés). Cette évaluation pourrait cependant être optimisée sur le plan méthodologique. Dans l'étude de Knopper *et al.* (2007), les os ont été congelés avant les mesures, ce qui est considéré comme une méthode de stockage acceptable mais non optimale pour évaluer la fragilité des os. De plus, si les 2 méthodes utilisées donnent des résultats bien corrélés ($r^2 = 0,49$) ; elles n'ont pas été calibrées pour les oiseaux (Knopper *et al.* 2007) et donc leur sensibilité n'est pas connue pour ce taxon, dont la structure des os est particulière en raison de leur adaptation morphologique au vol (Dumont 2010).

Nous verrons par la suite comment la mesure de ces effets sublétaux peut être intégrée aux dispositifs de surveillance.

V.2.3. Quel dispositif mettre en place : quel protocole, quel réseau ?

V.2.3.a. Contexte PPP

Nos travaux montrent (chapitre IV.B) qu'il est possible, dans un contexte de lutte PPP, de mesurer les effets des traitements sur les populations de prédateurs à travers le suivi indiciaire des densités d'une espèce commune. Ce type de suivi, couplé au suivi des traitements, permet donc d'évaluer l'efficacité des mesures mises en place pour réduire les effets des traitements sur les prédateurs. Ces suivis ont pu être menés à une échelle départementale grâce à la collecte de données par les réseaux associatifs et institutionnels locaux (Fédération des Chasseurs départementale, Fédération Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles FREDON et Direction Régionale de l'Alimentation de l'Agriculture et de la Forêt DRAAF ; Figure 31).

Nous mettons par ailleurs en évidence que la mesure non invasive de l'exposition des renards aux AVKs par la recherche de résidus dans leurs fèces permet, dans ce contexte de lutte, de déterminer les facteurs influençant leur exposition aux AVKs (chapitre III). La mesure d'exposition dans les fèces de carnivores apparaît donc comme une méthode opérationnelle pour suivre de façon non invasive l'exposition des carnivores aux AVKs. La collecte de fèces et de pelotes peut être envisagée à de grandes échelles ; au Royaume-Uni le comptage des fèces de renard le long de transects permet par exemple le suivi des populations de renards à une échelle nationale (Webbon, Baker & Harris 2004). Le réseau « opérateur » reste cependant à identifier.

Contrairement au suivi de l'exposition, le suivi des effets d'une exposition aux AVKs dans les fèces n'est pas opérationnel actuellement (chapitre IV.A). Le suivi des cas de mortalité par la collecte de cadavres reste essentiel pour détecter des épisodes d'empoisonnement aigus mais le fait que cette collecte soit non standardisée complique la mise en relation des traitements, de l'exposition et des effets associés (chapitre IV.B). Le développement du suivi des effets dans les fèces permettrait, dans le cas où une mesure standardisée des densités de populations de prédateurs est faite, d'associer plus finement les niveaux d'exposition mesurés aux effets qui en découlent pour les populations de prédateurs. Si la plupart des fèces sont contaminées au-delà d'un certain seuil de surface traitée (chapitre III), quelle est la signification en termes d'effets sur les populations ? La mise au point de la mesure du sang hémorragique dans les fèces permettrait de déterminer si, l'exposition bien que

générale, n'est pas associée à des effets hémorragiques ou si, au contraire, des effets hémorragiques sont détectés dès les premiers traitements. En confrontant les mesures dans les fèces aux variations des densités de population, on pourrait alors déterminer les répercussions au niveau des populations et en déduire idéalement des niveaux acceptables d'exposition et d'effets mesurés dans les fèces et donc de traitements. La recherche du lien entre l'exposition mesurée dans les fèces et les variations des densités de renard peut être envisagée sur la base de nos travaux, mais elle apparaît compromise par le fait que le signal d'exposition mesuré en automne est globalement faible (12 fèces positives/ 80) et qu'un effet de l'exposition au printemps (24 fèces positives / 80) sur les densités de population a pu être compensé par les mouvements de dispersion automnaux.

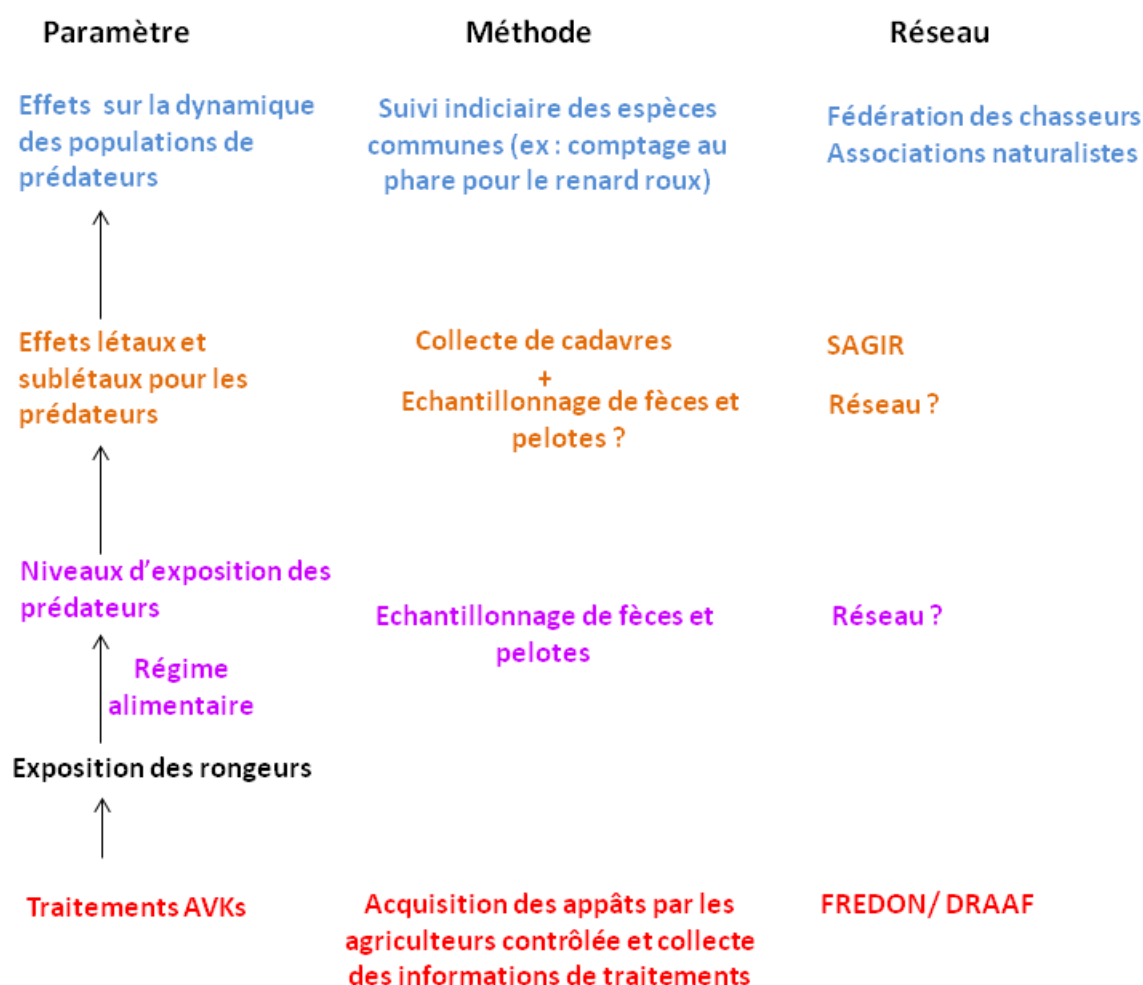


Figure 31. Dispositif de suivi de l'exposition et des effets sur les populations de prédateurs des AVKs utilisés dans une lutte PPP et proposé sur la base des essais préliminaires d'applicabilité présentés dans le manuscrit.

Ces dispositifs de suivi semblent applicables aux autres situations de lutte à large échelle contre les pestes agricoles où les prédateurs concentrent leur régime sur ces pestes. Dans certains systèmes, le contrôle des populations de rongeurs par les prédateurs est favorisé par l'implantation de nichoirs. Leur implantation a permis l'augmentation des densités d'individus nicheurs de Faucon

crécerelle *Falco tinnunculus* et d'Effraie des clochers *Tyto alba* dans des zones de pullulation du Campagnol des champs en Espagne (Paz *et al.* 2013). Dans les plantations de palmier à huile en Malaisie, le contrôle biologique des rats par les chouettes est également favorisé par l'implantation de nichoirs car elles peuvent s'en nourrir quasi-exclusivement (Wood & Fee 2003). L'implantation de nichoirs peut cependant coexister avec la lutte chimique aux AVKs comme c'est le cas en Malaisie (Puan *et al.* 2011). Dans ce contexte, les nichoirs sont implantés à des densités de 1 pour 5 à 10 ha et peuvent être occupés à un taux de près de 50 % (Wood & Fee 2003). La collecte des pelotes dans les nichoirs permettrait donc de suivre l'exposition des chouettes aux AVKs, et le suivi d'occupation des nichoirs permettrait, dans des environnements où la densité de sites « naturels » de nidification est comparable, le suivi des densités de population. Enfin, les informations sur les traitements pourraient a priori être obtenues à l'échelle de sous-unités dans les plantations au sein desquelles les traitements sont répertoriés (Aude Verwilghen⁷, comm. pers.).

V.2.3.b. Contexte biocide

V.2.3.ba. Echelle et résolution des suivis

Pour définir une résolution et une échelle de suivi appropriées, les variations spatiales et temporelles des usages doivent être mieux caractérisées. Des suivis nationaux ont pu être menés (Etats-Unis ; U.S. Environmental Protection Agency 2006, Canada ; ENKON environmental limited project no. 1004-01 2005, ou Royaume-Uni ; Dawson, Bankes & Garthwaite 2000 ; Dawson & Garthwaite 2001 ; Hughes *et al.* 2013 et Tosh *et al.* 2011) et ainsi des tendances nationales sur les usages peuvent être obtenues (*e.g.* dominance croissante des SGARs). Cependant ces suivis sont peu nombreux et ces enquêtes donnent peu d'informations sur l'importance de la mise en place des mesures de limitation du risque (Hughes *et al.* 2013). De plus, des contrastes régionaux existent indubitablement en lien avec les activités économiques régionales (*e.g.* l'utilisation des AVKs augmente en particulier à l'automne dans les grandes plaines céréalières, Liphatech comm. pers.) et la variabilité spatiale des usages et les conséquences qui en découlent sur les prédateurs ne sont que peu décrites à des échelles intermédiaires. Cette caractérisation peut s'appuyer sur des enquêtes sur les usages dont les pilotes / les opérateurs pourraient être les institutions et/ ou les producteurs de rodenticides.

Par ailleurs, si on envisage de comparer des situations nationales (par exemple restriction ou non de l'usage des AVKs aux professionnels), cela suppose de choisir une espèce qui puisse être retrouvée dans toute l'Europe (voir l'hémisphère Nord) donc qui soit suffisamment cosmopolite. Cela impose également une prise en compte du régime alimentaire qui peut, en lien avec la disponibilité des proies, varier à l'échelle continentale (*e.g.* pour le Chat forestier Lozano, Moleon & Virgos 2006) ou nationale (*e.g.* pour le Renard roux en Espagne ; Diaz-Ruiz *et al.* 2013).

⁷ Ingénieur agro-écologue. Cirad. UR Performance des systèmes de cultures pérennes, Montpellier.

V.2.3.bb. Choix de l'espèce sentinelle

Concernant le suivi de l'exposition, d'après nos travaux, l'utilisation des fèces de « type renard » n'est pas forcément le moyen optimal pour suivre l'exposition des prédateurs aux usages biocides ; le faible nombre de fèces positives retrouvées dans ce contexte nous laisse supposer qu'un grand nombre de fèces doit être collecté pour obtenir un signal exploitable. Ceci devrait cependant être vérifié par la collecte de fèces dans des secteurs plus diversifiés (régions plus urbaines ou dont l'agriculture est plus céréalière par exemple) et en couplant la mesure d'AVKs à l'analyse du régime alimentaire pour identifier un effet confondant des proies sélectionnées.

Une alternative consisterait à sélectionner une autre espèce sentinelle. Le fait qu'une des 2 fèces positives collectées en secteur biocide dans notre étude soit une fèces de chien suggère que les fèces d'espèces domestiques pourraient être utilisées. En France, les molécules restreintes à un usage biocide sont plus souvent retrouvées dans le foie des animaux domestiques que dans celui des animaux sauvages (Berny *et al.* 2010 ; voir la Figure 9 de la partie I.6.1.bb.). En Espagne, 71,4 % des carnivores domestiques étaient exposés à des toxiques contre 41,2 % de l'ensemble des animaux sauvages et domestiques échantillonnés, ce qui suggère qu'ils pourraient être utilisés comme sentinelle des expositions aux toxiques (Mateo, Sánchez-Barbudo & Camarero 2013). Le comportement d'enfouissement de ses fèces par le Chat domestique (Turner & Bateson 2000) semble compromettre son utilisation en tant qu'espèce sentinelle. Le chien semble plus approprié puisqu'il n'enfouit pas ses fèces et que c'est l'espèce de carnivore la plus répandue dans le monde (Vanak & Gompper 2009) ; ainsi ses fèces pourraient en théorie être collectées facilement dans tous les contextes de traitements biocides. Cependant, les chiens peuvent s'intoxiquer de façon primaire en ingérant directement des appâts ou de façon secondaire par la consommation de rongeurs intoxiqués (Rodrigues 2006) et la représentativité de leur exposition vis-à-vis des prédateurs doit être vérifiée.

La collecte de pelotes d'Effraie des clochers peut être également envisagée puisqu'il est possible d'y détecter des AVKs (Eadsforth, Dutton & Harrison 1991 ; Gray, Eadsforth & Dutton 1994). L'avantage de cette méthode est qu'on peut connaître précisément l'âge des pelotes par le nettoyage du site de collecte lors d'un premier passage et le prélèvement de pelotes lors d'un 2^e passage. Cette espèce, puisque cosmopolite (Frey *et al.* 2011), est également une bonne candidate en tant qu'espèce sentinelle mais en Europe elle est principalement inféodée à un habitat rural (Frey *et al.* 2011) ; ce qui ne permet pas un suivi dans les grandes agglomérations. La part de commensaux (rongeurs les plus exposés aux AVKs en contexte biocide, Figure 29) est par ailleurs variable dans son régime : ils ne sont jamais retrouvés dans les pelotes récoltées dans le secteur de pullulation du Campagnol terrestre en Franche-Comté (Bernard *et al.* 2010), mais les rats peuvent constituer 35 % de la biomasse consommée en Irlande du Sud (Eadsforth, Gray & Harrison 1996) et atteindre 35 % d'occurrence dans les pelotes d'effraies dans les villes au Canada (Hindmarch & Elliott 2012). L'analyse de la mesure d'exposition doit donc être couplée à celle du régime alimentaire.

S'il n'est pas possible de déterminer une espèce sentinelle appropriée dans un contexte biocide par l'utilisation des fèces ou des pelotes, le suivi de l'exposition par la mesure des résidus hépatiques d'AVKs chez des espèces chassables (renard ou sanglier par exemple) peut être envisagé. Le suivi d'exposition chez le sanglier aurait des implications en terme de santé publique puisque la viande de cette espèce est consommée (Pitt, Higashi & Primus 2011) et permettrait de tracer des intoxications primaire (consommation des appâts) ou secondaire (consommation de rongeurs contaminés) (Couval *et al.* 2013a). La collecte de ces espèces chassables pourrait consister en un prélèvement aléatoire (tirs ou piégeage) par les fédérations de chasseurs et les piégeurs. L'évaluation de l'état de santé général (condition corporelle), de la charge parasitaire des individus prélevés, ainsi qu'un prélèvement d'os, permettraient de mieux quantifier l'importance des effets sublétaux chez les individus exposés aux AVKs. Le suivi d'exposition dans le sang nécessite la capture des individus et peut être envisagé lorsque l'espèce fait l'objet d'un suivi spécifique, comme c'est par exemple le cas du Milan royal avec le baguage des jeunes au nid (Coeurdassier *et al.* 2013). La mesure d'exposition aux AVKs dans le plasma des jeunes milans peut par ailleurs être couplée avec des mesures d'effets : mesures biométriques ou mesure des temps de coagulation. La mesure des temps de coagulation apparaît délicate chez les oiseaux en raison de leur temps de coagulation court (Fisher 2009 ; Montaz 2013), mais le temps de Quick, le temps de thrombine et le temps de Venin de Vipère Russell ont pu être déterminés chez le Colin de virginie (Rattner *et al.* 2010), l'Effraie des clochers (Webster 2009), le Petit-duc maculé *Megascops asio* (Rattner *et al.* 2013) et le Crécerelle américain *Falco sparverius* (Rattner *et al.* 2011).

A priori le suivi des densités de population n'est pas limitant dans le choix d'une espèce sentinelle sauvage parmi celles citées précédemment puisque des protocoles sont opérationnels à large échelle (mise en œuvre par les associations naturalistes ou les fédérations de chasseurs) pour suivre les populations de ces espèces ; pour le renard à une échelle nationale (Webbon, Baker & Harris 2004) ou régionale (chapitre IV.B) et pour les rapaces à des niveaux nationaux en France (<http://rapaces.lpo.fr/mission-rapaces>) ou au Royaume-Uni (Walker *et al.* 2008 ; Walker *et al.* 2012).

V.3. Perspectives

Outre le développement des méthodes de suivi présentées précédemment, plusieurs axes de recherche peuvent être, sur la base de nos travaux, envisagés pour approfondir la compréhension du transfert des AVKs vers les prédateurs de rongeurs.

V.3.1. Caractériser la consommation des appâts rodenticides et les effets sur les populations de rongeurs cibles et non-cibles en contexte biocide

V.3.1.a. Affiner la caractérisation de la distribution spatiale et temporelle des contaminations aux AVKs dans la communauté de rongeurs

Dans un contexte biocide, nous étions limités dans la compréhension de la distribution spatiale des contaminations aux AVKs dans la communauté de rongeurs par le fait que nous ne disposions que d'informations parcellaires sur les traitements AVKs. Plusieurs questions restent donc en suspens. Quelle est la distribution spatiale des contaminations dans les rongeurs par rapport à un traitement identifié ? Les rongeurs exposés et retrouvés à plusieurs centaines de mètres des traitements biocides potentiels ont-ils été exposés aux rodenticides appliqués proches des bâtiments ou à des rodenticides utilisés en nature ? Par ailleurs, l'absence d'effets de l'âge sur les fréquences et les niveaux d'exposition des rongeurs suggèrent que tous les individus, quel que soit leur âge, reflètent un même historique d'expositions. Les expositions mesurées ne reflètent-elles donc que les expositions récentes des rongeurs ?

Ainsi, une étude expérimentale peut être envisagée au cours de laquelle l'application des appâts rodenticides est soumise à un contrôle expérimental (quantités d'appâts et modes d'application contrôlés) et l'exposition des rongeurs est suivie dans un rayon de plusieurs centaines de mètres et pendant plusieurs semaines. Des premiers essais pourraient être d'abord menés autour d'une exploitation agricole ou d'une habitation isolée. L'utilisation d'appâts colorés ou marqués permettrait de discriminer l'exposition des rongeurs aux traitements contrôlés d'une exposition à des traitements non contrôlés avoisinants. Le suivi de la consommation d'appâts par les rongeurs peut être fait en intégrant un colorant aux appâts (exemple ; Chicago Sky Blue 6B) puis en recherchant le colorant dans les fèces de rongeurs capturés dans des pièges non létaux (Brakes & Smith 2005). L'utilisation de ce type de marquage limite cependant le suivi temporel des expositions au temps de transit intestinal soit quelques jours (Savarie, Johns & Gaddis 1992). D'autres biomarqueurs à la persistance plus grande sont disponibles pour suivre la consommation d'appâts par les mammifères ; la rhodamine B peut par exemple être intégrée à des appâts et, après la consommation, être détectée pendant 180 jours dans les poils et 60 jours dans les moustaches de rats (Rahelinirina *et al.* 2010).

V.3.1.b. Suivre les effets des traitements sur les populations cibles et non-cibles

En parallèle du suivi d'exposition des rongeurs (cibles et non-cibles), Brakes & Smith (2005) ont également comparé les tailles de populations estimées par capture-marquage-recapture avant et après les traitements. Chaque site de traitement était couplé à un site témoin non traité et les densités diminuaient sur tous les sites traités alors que ce n'était pas le cas (4/5 cas) ou dans une moindre mesure sur les sites témoins. L'estimation des densités était faite toutes espèces confondues ; les effectifs étaient trop faibles pour suivre les effets sur les densités indépendamment pour chaque espèce. Plusieurs questions restent donc en suspens. Est-ce que cette baisse de densités est généralisable à toutes les situations de traitements biocides ? Ou y a-t-il des situations où le temps d'exposition des prédateurs est allongé car les densités sont telles que de nouveaux individus recolonisent les sites traités après la mort des rongeurs contaminés ? Y a-t-il une réponse différente en fonction de la mobilité des espèces de rongeurs (cible et non-cibles) considérées ? Pour aborder ces questions, le suivi des populations de rongeurs par capture-marquage-recapture pourrait donc être couplé à l'expérimentation décrite dans la partie précédente.

V.3.1.c. Préciser les implications de la résistance des rongeurs sur le transfert aux prédateurs

L'emploi de molécules contre lesquelles les populations de rongeurs contrôlées sont résistantes entraîne une inefficacité et ainsi un allongement des campagnes de traitements ; ce qui augmente le risque d'intoxication secondaire (Health and Safety Executive 2012). Shore *et al.* (2013) en apportent une première preuve *in situ*. Les chouettes effraies provenant de régions du Royaume-Uni où les rongeurs sont résistants aux AVKs sont plus susceptibles d'avoir des résidus hépatiques de SGARs détectables que les chouettes de régions où la résistance n'a pas été détectée. Cependant, les voies de transfert sous-jacentes doivent être identifiées. Shore *et al.* (2013) supposent que la présence de résistance augmente l'intensité des traitements et ainsi le transfert aux espèces de rongeurs non-cibles. Cependant, dans une situation où le transfert vers les prédateurs résulterait plus de la consommation des espèces de rongeurs cibles résistantes (rats et souris), un autre mécanisme serait à prendre en compte. Les rongeurs résistants, s'il n'a pas été démontré qu'ils accumulent plus d'AVKs, survivent plus longtemps et sont donc plus longtemps disponibles pour les prédateurs ; comme montré pour la chlorophacinone par Vein *et al.* (2013) et pour le difénacoum par Atterby, Kerins & MacNicol (2005).

Ainsi l'expérimentation décrite précédemment peut être envisagée dans plusieurs situations d'application :

- Respect des mesures de limitation du risque en absence de résistance des rongeurs aux AVKs
- Non respect des mesures de limitation du risque en absence de résistance
- Respect des mesures de limitation du risque en présence de résistance
- Non respect des mesures de limitation du risque en présence de résistance

Chaque situation peut être envisagée avec l'utilisation de FGARs ou de SGARs mais l'utilisation de SGARs peut être faite en priorité puisque ces molécules sont les plus utilisées à l'heure actuelle.

V.3.2. Définir l'importance des carcasses de rongeurs empoisonnés aux AVKs en tant que voie de transfert vers les prédateurs

D'après nos résultats, les parcelles traitées seraient particulièrement attrayantes pour les renards puisque des résidus de bromadiolone peuvent être retrouvés dans leur fèces dès les premières surfaces traitées, et que la proportion de fèces positives augmente rapidement ensuite avec les surfaces traitées. Sur les parcelles traitées, les rongeurs moribonds ont un comportement réduit de fuite et mourraient plus à découverts ; ce qui favoriserait le prélèvement des individus intoxiqués à des niveaux létaux (Cox 1991 ; Brakes & Smith 2005 ; Sage *et al.* 2008). La persistance des cadavres dans l'environnement est faible ; elle est en moyenne de 12 heures et est toujours inférieure à 2 jours dans un contexte biocide rural (Oxfordshire, Royaume-Uni ; Ntampakis & Carter 2005). En Franche-Comté, le suivi expérimental de carcasses de campagnols terrestres déposées en surface a montré que 87,5 % des carcasses disparaissaient en 0,5 à 1,5 jours suivant les parcelles suivies (Montaz, Jacquot & Coeurdassier 2012). Les cadavres de rongeurs intoxiqués constitueraient donc potentiellement une voie préférentielle d'intoxication secondaire.

Dans un contexte biocide le suivi de la consommation de carcasses de rongeurs déposées à proximité des bâtiments montre que le Milan royal, dans un secteur où il est nicheur, est le seul oiseau diurne prélevant les carcasses ; cela malgré la présence de corneilles et de buses (Ntampakis & Carter 2005). Le seul consommateur nocturne identifié est le renard (Ntampakis & Carter 2005). Dans un cadre de lutte PPP, les taux de consommation dépendent de la composition des peuplements de consommateurs présents à proximité des parcelles suivies ; d'après un suivi mené sur 3 parcelles les taux de consommation diurnes sont plus élevés en présence de corvidés que de rapaces (Montaz 2012). Par ailleurs, en automne, sur l'ensemble des parcelles, le taux moyen de consommation diurne est nettement supérieur au taux moyen de consommation nocturne ; alors que la tendance est peu marquée et est inverse au printemps. Dans cette expérimentation les consommateurs nocturnes n'ont pas été identifiés (Montaz 2012). Le suivi de la consommation des carcasses (utilisation de piège photo, observations directes, pièges à trace,...) permettrait de mieux identifier les consommateurs des rongeurs morts dans des scénarios plus diversifiés de traitements (PPP / biocides plus ou moins proches des bâtiments, printemps / automne) et de composition de la communauté de prédateurs. En l'absence de corvidés et/ ou de milan royaux, charognards a priori très efficaces, par qui sont consommés les rongeurs ? Dans le cadre d'un suivi non invasif de l'exposition des prédateurs aux traitements AVKs biocides, l'identification des consommateurs préférentiels des carcasses de rongeurs intoxiqués pourrait orienter le choix de l'espèce sentinelle. Par ailleurs, il serait possible de mieux peser l'importance de la collecte de cadavres en tant que mesure de limitation du risque en reliant, dans les 2 contextes d'usage des AVKs, la mesure d'exposition chez les prédateurs à l'intensité de la recherche des carcasses de rongeurs dans les sites traités.

V.3.3. Approfondir la compréhension des relations entre exposition des prédateurs aux AVKs, usage et régime alimentaire

V.3.3.a. Dater les expositions mesurées chez les prédateurs

La persistance des AVKs, en particulier des SGARs, complique l'interprétation des mesures d'exposition faites chez les prédateurs. En développant un moyen pour dater leur exposition, il serait possible de déterminer sur quelle période les usages d'AVKs doivent être considérés pour en analyser les conséquences sur l'exposition mesurée dans le foie ou les fèces des prédateurs.

Dans nos travaux en secteur PPP, appréhender la chronologie des traitements et de l'exposition associée dans les fèces était complexe puisque, suivant les secteurs échantillonnés, les traitements pouvaient débuter jusqu'à 46 jours avant le début des collectes ou en être synchrone, que les collectes pouvaient s'étaler sur 21 jours et que la validité de l'indice de fraîcheur utilisé n'est pas connue. Pour mieux appréhender ces relations chronologiques entre les traitements et l'exposition des prédateurs, on peut envisager une collecte régulière des fèces suite à des traitements rodenticides. En l'absence de suivi opérationnel dans un contexte biocide, une telle expérimentation pourrait être envisagée en priorité dans le département du Doubs sur les secteurs de pullulation du Campagnol terrestre. Les traitements PPP contre le Campagnol terrestre sont en effet suivis de façon précise et les renards sont, d'après nos résultats, essentiellement exposés aux traitements PPP plutôt que biocide. Le contrôle expérimental des traitements et l'utilisation d'appâts contenant de l'acide iophénoxyque permettrait théoriquement de relier précisément l'exposition mesurée chez les prédateurs à des traitements donnés (sans souci de confusion avec des traitements biocides par exemple). En effet, ce biomarqueur peut être retrouvé chez des coyotes après l'ingestion de viande de chèvres marquées jusqu'à 100 jours avant leur mort (Knowlton & Olmstead 2001). Cependant une telle expérimentation serait lourde à mettre en œuvre puisque la recherche de ce marqueur nécessite la capture des animaux ; sa mesure se faisant dans le sérum. De plus, les risques environnementaux associés à l'utilisation de cette substance restent à préciser (Ballesteros *et al.* 2013).

V.3.3.b. Affiner les analyses de régime alimentaire

Les analyses de régime alimentaire dans les fèces se basaient dans notre étude sur l'identification des restes macroscopiques et étaient, pour les rongeurs, limitées par la qualité des os et des dents restants. Il n'était ainsi pas toujours possible de différencier les espèces de campagnols du genre *Microtus* et de distinguer les mulots des souris domestiques. Si les campagnols du genre *Microtus* ont des mœurs relativement similaires, la souris domestique est beaucoup plus commensale que les mulots. Ainsi, nous montrons que les souris sont plus contaminées aux AVKs que les mulots. Nos résultats sont à prendre avec précaution en raison des faibles effectifs de souris analysés mais cela suggère que la consommation de l'une ou l'autre de ces espèces de *Murinae* par les prédateurs ne les soumettra pas à la même exposition aux AVKs. L'utilisation de méthodes génétiques permettrait d'identifier les rongeurs consommés de manière spécifique (Napolitano *et al.* 2008 ; Shehzad *et al.* 2012 ; Pompanon *et al.* 2012) et donc de préciser les voies d'exposition des

prédateurs. L'utilisation de la méthode du *metabarcoding* permettrait par ailleurs, car elle est plus économe en temps que l'analyse macroscopique des restes alimentaires ou que des approches moléculaires moins récentes (Pompanon *et al.* 2012), d'augmenter les effectifs de fèces analysées. Ceci faciliterait le couplage des mesures d'exposition non invasives aux AVKs dans les fèces aux analyses de régime alimentaire, et permettrait d'envisager des suivis sur de grandes échelles spatiales et temporelles.

Les mesures d'exposition faites dans le plasma ou le foie peuvent être associées à l'analyse des isotopes stables ; ce qui permet de définir la position trophique relative des individus capturés. Shore *et al.* (2012) ont pu ainsi déterminer que des renards exposés aux AVKs étaient à une position trophique plus élevée que des renards non exposés. Dans leur zone d'étude, les espèces proies les plus susceptibles de contenir des AVKs (les *Murinae*), étaient en effet à un plus haut niveau trophique que des espèces moins exposées (espèces plus herbivores comme les campagnols du genre *Microtus*). Selon le taux de renouvellement des tissus analysés, la mesure des isotopes stables est représentative de périodes allant de quelques jours à plusieurs mois. Les périodes de temps intégrées par les différents tissus sont concordantes avec celles représentées par les contaminations d'AVKs ; de l'ordre du mois pour le foie et de quelque jours pour le plasma (De Lange & Van den Brink 2006 ; Dalerum & Angerbjorn 2005).

V.4. Conclusion

Dans le cadre de la lutte PPP contre les rongeurs, les stratégies de lutte intégrée développées sont le résultat de collaborations étroites entre chercheurs, organismes techniques agricoles et donc agriculteurs (voir pour le campagnol terrestre Delattre & Giraudoux 2009 ou Couval *et al.* 2013ab et voir Singleton *et al.* 2010 pour la lutte contre d'autres rongeurs nuisibles en culture, notamment dans les pays asiatiques). L'originalité du contexte franc-comtois réside dans le fait que les travaux de recherche ne se sont pas limités à l'étude des facteurs de contrôle des populations de rongeurs (synthèse dans Delattre & Giraudoux 2009), mais qu'ils ont également portés sur les aspects écotoxicologiques associés à la lutte (Raoul *et al.* 2003 ; Giraudoux *et al.* 2006 ; Coeurdassier *et al.* 2012 ; Sage *et al.* 2010 ; Sage *et al.* 2007 ; Sage 2008). En parallèle et de façon indépendante, le suivi des populations de renards roux a été réfléchi sur l'ensemble du Doubs par la Fédération des chasseurs départementale (dans une perspective de gestion des espèces cynégétiques). Dans ce contexte, et sur la base des travaux présentés dans ce mémoire, nous pouvons envisager un dispositif de surveillance dont l'espèce sentinelle serait le Renard roux et qui permettrait la préconisation dynamique de nouvelles mesures visant à limiter le transfert vers les prédateurs de la bromadiolone utilisée pour une lutte PPP contre le Campagnol terrestre (Figure 32).

En France, dans certaines régions, les pullulations sont plus localisées et de fréquence moins régulières qu'en Franche-Comté (massifs Pyrénéens et Alpins jusqu'à 2400 m d'altitude), mais la tendance semble être à un rapprochement des cycles (Couval *et al.* 2013a). De plus, de nouvelles régions sont soumises à des pullulations spatiales et temporelles de grande ampleur ; entre autres la Bourgogne (Côte d'Or, Saône et Loire) ou la Champagne-Ardenne (Ardennes) (Couval *et al.* 2013a). Dans le cas d'un contrôle chimique du Campagnol terrestre dans ces régions, le dispositif proposé ici pourrait être transposé. De plus, ce dispositif permettrait de surveiller les effets de la bromadiolone dans la lutte contre d'autres rongeurs nuisibles des cultures. En effet, l'utilisation de la bromadiolone serait, en France, étendue à la lutte contre le Campagnol des champs *Microtus arvalis*, le Campagnol provençal *Microtus duodecimcostatus*, le Campagnol souterrain *Microtus subterraneus* et le Mulot sylvestre *Apodemus sylvaticus* (Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt 2012).

Dans le cadre d'une lutte PPP (toutes pestes agricoles et pas seulement les rongeurs) et en Europe, l'heure est à la mise en application du paquet pesticide et donc au développement de méthodes de suivi des traitements et de leurs effets (Department for Environment Food and Rural Affairs 2013 ; Comité de surveillance biologique du territoire 2011), ainsi qu'au développement des stratégies de lutte intégrée (Birch, Begg & Squire 2011 ; Pretty 2008). Dans un cadre biocide, on dépasse l'encadrement des pratiques agricoles seules, ce qui complique la mise en place des suivis.

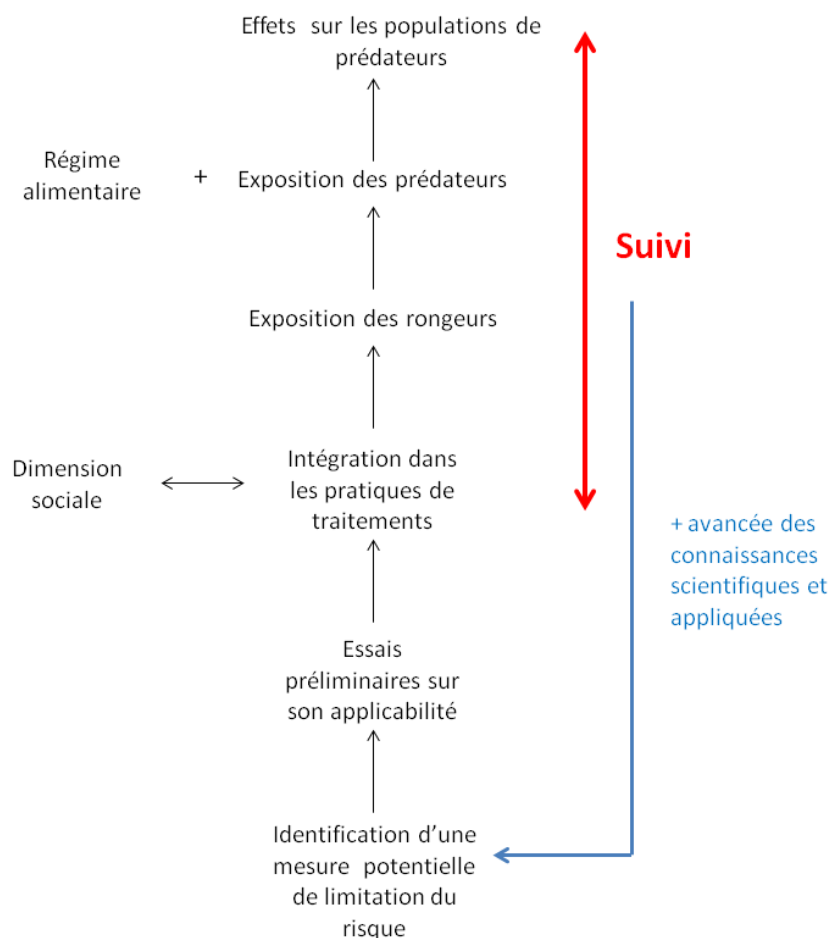


Figure 32. Dispositif de suivi de l'efficacité des mesures mises en place pour limiter le transfert et les impacts des AVKs vers et sur les populations de prédateurs.

Dans un cadre biocide, nous l'avons vu, un dispositif de mesure, chez les prédateurs, de l'exposition aux AVKs et des effets qui en résultent est difficile à mettre en place en raison de la diversité des utilisateurs, des molécules et des situations écologiques concernés. L'utilisation des rodenticides biocides, donc dans le cadre de la protection de la santé humaine ou celle des animaux, peut se faire et est donc évaluée dans des scénarios très différents : à l'intérieur ou proche des bâtiments, dans les égoûts, dans les zones ouvertes (golfes par exemple) et dans les décharges (qui favorisent la prolifération des rongeurs et attirent ainsi les prédateurs) (Larsen 2003). Pour prendre en compte les risques pour les prédateurs associés aux différents usages (PPP / biocide) et contextes d'utilisation, les produits (type d'appâts / substance active / concentration de substance active) sont homologués pour un usage donné, un contexte d'utilisation donné et parfois pour un utilisateur donné. Cependant l'encadrement de l'utilisation des AVKs dans les différents scénarios de leur utilisation biocide suscite actuellement des débats. Au Royaume-Uni par exemple l'utilisation des SGARs les plus toxiques (flocoumafène, brodifacoum et diféthialone) était jusqu'à présent restreinte à un usage à l'intérieur des bâtiments ; ceci pour limiter le transfert vers la faune non-cible (Health and Safety

Executive 2012). Cependant, l'emploi de molécules contre lesquelles les populations de rongeurs contrôlées sont résistantes entraîne une inefficacité et ainsi un allongement des campagnes de traitements; ce qui augmente le risque d'intoxication secondaire (Health and Safety Executive 2012 ; Shore *et al.* 2013). Ainsi, en présence de résistance vis-à-vis de la bromadiolone et du difénacoum ; le Royaume-Uni autorise l'utilisation du flocoumafène, du brodifacoum et de la diféthialone lors de courtes campagnes de traitements ; et cela même sur des populations de rats établies loin des bâtiments (Health and Safety Executive 2012 ; Buckle *et al.* 2013). Dans ce contexte, il apparaît essentiel de mesurer les effets sur le transfert des prédateurs des choix faits en matière d'encadrement des usages biocides des AVKs.

Par ailleurs, dans le cadre de la lutte biocide, la vigilance est également de mise car l'Europe, lors de la réforme récente sur les biocides (règlement N°528/2012), prévoit une procédure d'évaluation et de mise sur le marché facilitée des nouvelles substances actives biocides ; ceci pour encourager le développement de nouvelles molécules par les industriels. Les produits biocides contenant de nouvelles substances actives peuvent par exemple obtenir une autorisation de mise sur le marché au niveau communautaire (European Union 2009) . Concernant les anticoagulants, le challenge actuel consisterait à développer des molécules présentant une affinité forte pour leur récepteur (enzyme de recyclage de la vitamine K) lors de l'ingestion mais qui sont ensuite plus rapidement éliminées par l'organisme que les composés actuels (Berny 2011). Plusieurs pistes de développement de molécules sont explorées à l'heure actuelle : amélioration de la performance des rodenticides non anticoagulants comme le phosphore de zinc ou des anticoagulants de 1^{ère} génération ou identification de molécules alternatives aux propriétés anticoagulantes comme la paraminopropiophenone (PAPP) (Eason *et al.* 2012). Si les propriétés des nouvelles molécules peuvent être partiellement anticipées, leur mise sur le marché facilitée à l'échelle communautaire questionne dans un contexte où on n'évalue encore que partiellement les effets environnementaux indésirables associés à des molécules qui sont, comme c'est le cas des AVKs, utilisées depuis des dizaines d'années.

VI. Références bibliographiques

-A-

- AGRITOX (1998) *Base de données sur les substances actives phytopharmaceutiques. DIFENACOUN*. <http://www.dive.afssa.fr/agritox/php/sa.php?sa=1015>, consulté le 28/03/2013.
- Albert, C.A., Wilson, L.K., Mineau, P., Trudeau, S. & Elliott, J.E. (2010) Anticoagulant Rodenticides in Three Owl Species from Western Canada, 1988-2003. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **58**, 451-459.
- Alterio, N. (1996) Secondary poisoning of stoats (*Mustela erminea*), feral ferrets (*Mustela furo*), and feral house cats (*Felis catus*) by the anticoagulant poison, brodifacoum. *New Zealand Journal of Zoology*, **23**, 331-338.
- AMAP, 2004. AMAP Assessment 2002: Persistent Organic Pollutants in the Arctic. Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP), Oslo, Norway.
- Artois, M. (1989) Le renard roux (*Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758). *Encyclopédie des carnivores de France*. (eds. M. Artois & P. Delattre), pp. 90. Société Française pour l'Etude et la Protection des Mammifères, Nort/Erdre.
- Artois, M. (1997) Managing problem wildlife in the 'Old World': A veterinary perspective. *Reproduction Fertility and Development*, **9**, 17-25.
- Atterby, H., Kerins, G.M. & MacNicoll, A.D. (2005) Whole-carcass residues of the rodenticide difenacoum in anticoagulant-resistant and -susceptible rat strains (*Rattus norvegicus*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, **24**, 318-323.

-B-

- Bajoria, R., Sooranna, S.R. & Contractor, S.F. (1996) Differential binding of warfarin to maternal, foetal and non-pregnant sera and its clinical implications. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **48**, 486-491.
- Balestrieri, A., Remonti, L. & Prigioni, C. (2011) Assessing carnivore diet by faecal samples and stomach contents: a case study with Alpine red foxes. *Central European Journal of Biology*, **6**, 283-292.
- Ballesteros, C., Sage, M., Fisher, P., Massei, G., Mateo, R., De La Fuente, J., Rossi, S. & Gortazar, C. (2013) Iophenoxic acid as a bait marker for wild mammals: efficacy and safety considerations. *Mammal review*, **43**, 156-166.
- Bartos, M., Dao, S., Douk, D., Falzone, S., Gumerlock, E., Hoekstra, S., Kelly-Reif, K., Mori, D., Tang, C., Vasquez, C., Ward, J., Young, S., Morzillo, A., Riley, S. & Longcore, T. (2012) Use of Anticoagulant Rodenticides in Single-Family Neighborhoods Along an Urban-Wildland Interface in California. *Cities and the Environment (CATE)*, **4 (1) Article 12**, 19 p.
- Bassi, E., Donaggio, E., Marcon, A., Scandura, M. & Apollonio, M. (2012) Trophic niche overlap and wild ungulate consumption by red fox and wolf in a mountain area in Italy. *Mammalian Biology*, **77**, 369-376.
- Becker, R.A. & Wilks, A.R. (2013) *Package mapdata. Version 2.2-2*. <http://cran.r-project.org/>
- Bernard, N., Michelat, D., Raoul, F., Quere, J.P., Delattre, P. & Giraudoux, P. (2010) Dietary response of Barn Owls (*Tyto alba*) to large variations in populations of common voles (*Microtus arvalis*) and European water voles (*Arvicola terrestris*). *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, **88**, 416-426.
- Berny, P. (2007) Pesticides and the intoxication of wild animals. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **30**, 93-100.
- Berny, P. (2011) Challenges of Anticoagulant rodenticides : resistance and ecotoxicology . *Pesticides in a Modern World*. (ed M. Stoytcheva), pp. 441-468. Intech Publisher, online.

- Berny, P. & Gaillet, J.R. (2008) Acute poisoning of Red Kites (*Milvus milvus*) in France: data from the SAGIR network. *Journal of Wildlife Diseases*, **44**, 417-426.
- Berny, P., Buronfosse, T., Buronfosse, F., Lamarque, F. & Lorgue, G. (1997) Field evidence of secondary poisoning of foxes (*Vulpes vulpes*) and buzzards (*Buteo buteo*) by bromadiolone, a 4-year survey. *Chemosphere*, **35**, 1817-1829.
- Berny, P., Velardo, J., Pulce, C., D'Amico, A., Kammerer, M. & Lasseur, R. (2010) Prevalence of anticoagulant rodenticide poisoning in humans and animals in France and substances involved. *Clinical Toxicology*, **48**, 935-941.
- Birch, A.N.E., Begg, G.S. & Squire, G.R. (2011) How agro-ecological research helps to address food security issues under new IPM and pesticide reduction policies for global crop production systems. *Journal of Experimental Botany*, **62**, 3251-3261.
- Birks, J.D.S. (1998) Secondary rodenticide poisoning risk arising from winter farmyard use by the European polecat *Mustela putorius*. *Biological Conservation*, **85**, 233-240.
- Bivand, R. & Lewin-Koh, N. (2013) *maptools: Tools for reading and handling spatial objects*. Version 0.8-23. <http://r-forge.r-project.org/projects/maptools/>.
- Bivand, R.S., Pebesma, E.J. & Gómez-Rubio, V. (2008) *Applied Spatial Data Analysis with R*, edn. Springer Science+Business Media LLC, New York.
- Boermans, H.J., Johnstone, I., Black, W.D. & Murphy, M. (1991) Clinical signs, laboratory changes and toxicokinetics of brodifacoum in the horse. *Canadian Journal of Veterinary Research*, **55**, 11-27.
- Booth, L.H., Eason, C. & Spurr, E. (2001) Literature review of the acute toxicity and persistence of brodifacoum to invertebrates and studies of residue risks to wildlife and people. *Science for conservation*, **177**, 1-9.
- Borst, G.H.A. & Counotte, G.H.M. (2002) Shortfalls using second-generation anticoagulant rodenticides. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, **33**, 85-85.
- Brakes, C. & Smith, R. (2005) Exposure of non-target small mammals to rodenticides: short-term effects, recovery and implications for secondary poisoning. *Journal of Applied Ecology*, **42**, 118-128.
- Brook, B.W., Sodhi, N.S. & Bradshaw, C.J.A. (2008) Synergies among extinction drivers under global change. *Trends in Ecology & Evolution*, **23**, 453-460.
- Brown, K.P., Alterio, N. & Moller, H. (1998) Secondary poisoning of stoats (*Mustela erminea*) at low mouse (*Mus musculus*) abundance in a New Zealand Nothofagus forest. *Wildlife Research*, **25**, 419-426.
- Buckle, A., Endepols, S., Klemann, N. & Jacob, J. (2013) Resistance testing and the effectiveness of difenacoum against Norway rats (*Rattus norvegicus*) in a tyrosine139cysteine focus of anticoagulant resistance, Westphalia, Germany. *Pest Management Science*, **69**, 233-239.
- Buckle, A.P. & Prescott, C.V. (2012) Monitoring impacts of vertebrate pesticides in the UK: 1993 to 2007. In 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin.
- Bueno, A.D. & Motta-Junior, J.C. (2008) Small mammal prey selection by two owl species in southeastern Brazil. *Journal of Raptor Research*, **42**, 248-255.
- Burlet, P., Deplazes, P. & Hegglin, D. (2010) Efficient age determination: how freezing affects eye lens weight of the small rodent species *Arvicola terrestris*. *European Journal of Wildlife Research*, **56**, 685-688.
- Burnham, K.P. & Anderson, D.R. (2002) *Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach*, 2nd edn. Springer, Berlin.

-C-

- CRRU (2013) *Think Wildlife. Campaign for Responsible Rodenticide Use*. <http://www.thinkwildlife.org.uk/index.php>, site consulté le 01/07/13.
- Cabidoche, Y.M., Achard, R., Cattan, P., Clermont-Dauphin, C., Massat, F. & Sansoulet, J. (2009) Long-term pollution by chlordecone of tropical volcanic soils in the French West Indies: A simple leaching model accounts for current residue. *Environmental Pollution*, **157**, 1697–1705.
- Caroulle, F. & Baubet, O. (2006) Dégâts de rongeurs en forêt : comment y remédier ?. *Revue forestière française*, **5**, 449-462.
- Cavallini, P. & Volpi, T. (1995) Biases in the analysis of the diet of the red fox *Vulpes vulpes*. *Wildlife Biology*, **1**, 243-248.
- Cavia, R., Cueto, G.R. & Suárez, O.V. (2012) Techniques to Estimate Abundance and Monitoring Rodent Pests in Urban Environments. *Integrated Pest Management and Pest Control - Current and Future Tactics*. (ed S. Soloneski), pp. 147-172. Intech, <http://www.intechopen.com>.
- Chame, M. (2003) Terrestrial mammal feces: a morphometric summary and description. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, **98**, 71-94.
- Chautan, M., Pontier, D. & Artois, M. (2000) Role of rabies in recent demographic changes in Red Fox (*Vulpes vulpes*) populations in Europe. *Mammalia*, **64**, 391-410.
- Christensen, T.K., Lassen, P. & Elmeros, M. (2012) High Exposure Rates of Anticoagulant Rodenticides in Predatory Bird Species in Intensively Managed Landscapes in Denmark. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **63**, 437-444.
- Clavero, M. & Garcia-Berthou, E. (2005) Invasive species are a leading cause of animal extinctions. *Trends in Ecology & Evolution*, **20**, 110-110.
- Cochran, W.G. (1954) Some methods for strengthening the common χ^2 test. *Biometrics*, **10**, 417-451.
- Coeurdassier, M., Montaz, J., Jacquot, M., Crini, N., Druart, C., Fourel, I., Berny, P., Scheiffler, R., Fritsch, C., Shlosberg, A., Caillet, L. & Morin, C. (2013) Monitoring the exposure of nestling Red kites to chemicals. In 23rd Annual Meeting of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Glasgow.
- Coeurdassier, M., Poirson, C., Paul, J., Rieffel, D., Michelat, D., Reymond, D., Legay, P., Giraudoux, P. & Scheiffler, R. (2012) The diet of migrant Red Kites *Milvus milvus* during a Water Vole *Arvicola terrestris* outbreak in eastern France and the associated risk of secondary poisoning by the rodenticide bromadiolone. *Ibis*, **154**, 1-11.
- Coeurdassier, M., Sage, M., Defaut, R., Berny, P. & Giraudoux, P. (2009) Ecotoxicologie: transfert de la bromadiolone en nature. *Le campagnol terrestre, prévention et contrôle des populations*. (coord. P. Delattre & P. Giraudoux), pp. 79-87. Editions Quae, Versailles.
- Comité de surveillance biologique du territoire (2011) *Avis du CSBT sur la mise en place d'un réseau de biovigilance relatif aux effets non intentionnels des pratiques agricoles sur l'environnement*. Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt.
- Commission Directive 98/8/EC (2007a) *DIFETHIALONE (PT 14). Assessment report. Finalised in the Standing Committee on Biocidal Products at its meeting on 21 June 2007 in view of its inclusion in Annex I to Directive 98/8/EC*. European Union.
- Commission Directive 98/8/EC (2007b) *DIFENACOUUM (PT 14). Assessment report. Finalised in the Standing Committee on Biocidal Products at its meeting on 29 November 2007 in view of its inclusion in Annex I to Directive 98/8/EC*. European Union.
- Commission Directive 98/8/EC. (2008) *BROMADIOLONE (PT 14). Assessment report. Finalised in the Standing Committee on Biocidal Products at its meeting on 30 May 2008 in view of its inclusion in Annex I to Directive 98/8/EC*. European Union.

- Commission Directive 98/8/EC (2009a) *CHLOROPHACINONE (PT 14). Assessment report. Finalised in the Standing Committee on Biocidal Products at its meeting on 20 February 2009 in view of its inclusion in Annex I to Directive 98/8/EC.* European Union.
- Commission Directive 98/8/EC (2009b) *BRODIFACOUM (PT 14). Assessment report. Finalised in the Standing Committee on Biocidal Products at its meeting on 17 September 2009 in view of its inclusion in Annex I to Directive 98/8/EC.* European Union.
- Commission Directive 98/8/EC (2009c) *FLOCOUMAFEN (PT 14). Assessment report. Finalised in the Standing Committee on Biocidal Products at its meeting on 15 May 2009 in view of its inclusion in Annex I to Directive 98/8/EC.* European Union.
- Commission Directive 98/8/EC (2009d) *WARFARIN (PT 14). Assessment Report. Finalised in the Standing Committee on Biocidal Products at its meeting on September 2009 in view of its inclusion in Annex I to Directive 98/8/EC.* European Union.
- Commission Directive 98/8/EC (2009e) *COUMATETRALYL (PT14). Assessment report. Finalised in the Standing Committee on Biocidal Products at its meeting on 20 February 2009 in view of its inclusion in Annex I to Directive 98/8/EC.* European Union.
- Commission Européenne (2012a) *DÉCISION D'EXÉCUTION DE LA COMMISSION du 31 octobre 2012 approuvant les restrictions concernant les autorisations des produits biocides contenant du difénacoum notifiées par l'Allemagne conformément à l'article 4, paragraphe 4, de la directive 98/8/CE du Parlement européen et du Conseil.* Union Européenne.
- Commission Européenne (2012b) *DÉCISION D'EXÉCUTION DE LA COMMISSION du 18 juin 2012 approuvant les restrictions concernant les autorisations des produits biocides contenant de la diféthialone notifiées par la Suède conformément à l'article 4, paragraphe 4, de la directive 98/8/CE du Parlement européen et du Conseil.* Union européenne.
- Couval, G., Truchetet, D., Coeurdassier, M., Michelin, Y., Jacquot, M., Giraudoux, P., Berny, P., Decors, A., Morlans, S., Quintaine, T. & Renaude, R. (2013a) Pullulations de campagnol terrestre : quels enjeux ?. *Phytoma*, **664**, 33-36.
- Couval, G., Truchetet, D., Coeurdassier, M., Michelin, Y., Jacquot, M., Giraudoux, P., Berny, P., Decors, A., Morlans, S., Quintaine, T. & Renaude, R. (2013b) Lutte raisonnée contre le campagnol terrestre. *Phytoma*, **664**, 33-36.
- Cox, P. (1991) *Environmental effects of rodenticide use.* PhD thesis, University of Reading, United Kingdom.
- Cox, P.R. & Smith, R.H. (1990) Rodenticide ecotoxicology - Assessing nontarget population effects. *Functional Ecology*, **4**, 315-320.
- Craddock, P. (2001) *Aspects of the Ecology of Forest Invertebrates and the Use of Brodifacoum.* PhD thesis, University of Auckland, New Zealand.
- Cressie, N. & Read, T.R.C. (1985) Do sudden infant deaths come in clusters?. *Statistics and Decisions*, **3**, 699-719.

-D-

- Dalerum, F. & Angerbjorn, A. (2005) Resolving temporal variation in vertebrate diets using naturally occurring stable isotopes. *Oecologia*, **144**, 647-658.
- Daniels, M.J., Hutchings, M.R. & Greig, A. (2003) The risk of disease transmission to livestock posed by contamination of farm stored feed by wildlife excreta. *Epidemiology and Infection*, **130**, 561-568.
- Davidson, R.S. & Armstrong, D.P. (2002) Estimating impacts of poison operations on non-target species using mark-recapture analysis and simulation modelling: an example with saddlebacks. *Biological Conservation*, **105**, 375-381.

- Davison, A., Birks, J., Brookes, R., Braithwaite, T. & Messenger, J. (2002) On the origin of faeces: morphological versus molecular methods for surveying rare carnivores from their scats. *Journal of Zoology, London*, **257**, 141–143.
- Dawson, A. & Garthwaite, D. (2001) *Pesticide usage survey report 185. Rodenticide usage by local authorities in Great Britain 2001*. Department for Environment Food and Rural Affairs.
- Dawson, A., Banks, J. & Garthwaite, D. (2000) *Pesticide usage survey report 175 - Rodenticide use in farm in Great Britain growing arable crops*. Department for Environment Food and Rural Affairs.
- De Lange, H.J. & Van den Brink, N.W. (2006) *Literature review of available techniques to characterize marine and estuarine food webs. With emphasis for application in the model OMEGA*. Alterra-rapport 1372, Alterra, Wageningen.
- Decors, A. & Mastain, O. (2010) *Wildlife epidemiological surveillance, results of analyses performed from 2006 to 2008 within the framework of the SAGIR network, ONCFS/FNC/FDC network*. National hunting and wildlife agency (ONCFS).
- Defaut, R., Note, P., Chabalier, C., Couval, G. & Truchetet, D. (2009) Expérimentation rodenticides et méthodes alternatives. *Le campagnol terrestre, prévention et contrôle des pullulations*. (coord. P. Delattre & P. Giraudoux), pp. 143-153. Edition QUAE, Versailles.
- Delattre, P. & Giraudoux, P. (2009) *Le campagnol terrestre. Prévention et contrôle des populations*, Edition QUAE, Versailles.
- Delattre, P., Clarac, R., Melis, J., Pleydell, D. & Giraudoux, P. (2006) How moles contribute to colonization success of water voles in grassland: implications for control. *Journal of Applied Ecology*, **43**, 353-359.
- Delattre, P., De Sousa, B., Fichet-Calvet, E., Quere, J.P. & Giraudoux, P. (1999) Vole outbreaks in a landscape context: evidence from a six year study of *Microtus arvalis*. *Landscape Ecology*, **14**, 401-412.
- Delattre, P., Giraudoux, P., Baudry, J., Musard, P., Toussaint, M., Truchetet, D., Stahl, P., Poule, M.L., Artois, M., Damange, J.P. & Quere, J.P. (1992) Land-use patterns and types of common vole (*Microtus arvalis*) population-kinetics. *Agriculture Ecosystems & Environment*, **39**, 153-169.
- Delattre, P., Giraudoux, P., Baudry, J., Quere, J.P. & Fichet, E. (1996) Effect of landscape structure on Common Vole (*Microtus arvalis*) distribution and abundance at several space scales. *Landscape Ecology*, **11**, 279-288.
- Delibes-Mateos, M., de Simon, J.F., Villafuerte, R. & Ferreras, P. (2008) Feeding responses of the red fox (*Vulpes vulpes*) to different wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) densities: a regional approach. *European Journal of Wildlife Research*, **54**, 71-78.
- Dell'Arte, G.L., Laaksonen, T., Norrdahl, K. & Korpimäki, E. (2007) Variation in the diet composition of a generalist predator, the red fox, in relation to season and density of main prey. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology*, **31**, 276-281.
- Department for Environment Food and Rural Affairs (2013) *UK National Action Plan for the Sustainable Use of Pesticides (Plant Protection Products)*. www.defra.gov.uk.
- Díaz-Ruiz, F., Delibes-Mateos, M., García-Moreno, J.L., López-Martin, J.M., Ferreira, C. & Ferreras, P. (2013) Biogeographical patterns in the diet of an opportunistic predator: the red fox *Vulpes vulpes* in the Iberian Peninsula. *Mammal Review*, **43**, 59-70.
- Diggle, P.J. & Ribeiro Jr, P.J. (2007) *Model Based Geostatistics*, edn. Springer, New York.
- Dinkel, A., Kern, S., Brinker, A., Oehme, R., Vaniscotte, A., Giraudoux, P., Mackenstedt, U. & Romig, T. (2011) A real-time multiplex-nested PCR system for coprological diagnosis of *Echinococcus multilocularis* and host species. *Parasitology Research*, **109**, 493-498.
- Dowding, C.V., Shore, R.F., Worgan, A., Baker, P.J. & Harris, S. (2010) Accumulation of anticoagulant rodenticides in a non-target insectivore, the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*). *Environmental Pollution*, **158**, 161-166.

- Dowding, J.E., Lovegrove, T.G., Ritchie, J., Kast, S.N. & Puckett, M. (2006) Mortality of northern New Zealand dotterels (*Charadrius obscurus aquilonius*) following an aerial poisoning operation. *Notornis*, **53**, 235–239.
- Dubois, A. & Lacouture, L. (2011) Commissariat général au développement durable. Service de l'observation et des statistiques. Bilan de présence des micropolluants dans les milieux aquatiques continentaux. Période 2007-2009. *Etudes & documents*, **54**, 1-60.
- Dumont, E.R. (2010) Bone density and the lightweight skeletons of birds. *Proceedings of the Royal Society B*, **277**, 2193-2198.
- E-**
- ENKON environmental limited project no. 1004-01 (2005) *Survey of pesticide use in British Columbia: 2003*. Environment Canada and Ministry of Water, Land and Air Protection.
- EUROSTAT (2010) From farm to fork. Focus on sustainable agriculture and fisheries statistics. *Sigma, the bulletin of european statistics*, **1**, 1-56.
- Eadsforth, C., Gray, A. & Harrison, E. (1996) Monitoring the exposure of barn owls to second-generation rodenticides in southern Eire. *Pesticide Science*, **47**, 225-233.
- Eadsforth, C.V., Dutton, A.J., Harrison, E.G. & Vaughan, J.A. (1991) A barn owl feeding study with C-14-flocoumafen-dosed mice - Validation of a noninvasive method of monitoring exposure of barn owls to anticoagulant rodenticides in their prey. *Pesticide Science*, **32**, 105-119.
- Eason, C. (2007) Rodenticide (and vertebrate pesticide). Effects on wildlife health. *Encyclopedia of Pest Management Volume II*. (ed D. Pimentel), pp. 731-734. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Eason, C., Murphy, E., Wright, G. & Spurr, E. (2002) Assessment of risks of brodifacum to non-target birds and mammals in New Zealand. *Ecotoxicology*, **11**, 35-48.
- Eason, C.T., Henderson, R., Murphy, E., Shapiro, L., MacMorran, D., Blackie, H., Brimble, M., Conole, D., Rennison, D., Gibson, T.J. & Gregory, N.G. (2012) Retrieving and retaining older and advancing novel rodenticides-as alternatives to anticoagulants. In 25th Vertebrate Pest Conference (March 5-8 2012), Monterey, California, USA.
- Eckert, J., Gottstein, B., Heath, D. & Liu, F.J. (2001) Prevention of echinococcosis in humans and safety precautions. *WHO/OIE Manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern*. (eds. J. Eckert, M .A. Gemmell, F .X. Meslin & Z .S. Pawlowski), pp. 238-247. WHO/OIE, Paris.
- Ecophyto 2018 (2008) *Plan ECOPHYTO 2018 de réduction des usages de pesticides 2008-2018*. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche.
- Elmeros, M., Christensen, T.K. & Lassen, P. (2011) Concentrations of anticoagulant rodenticides in stoats *Mustela erminea* and weasels *Mustela nivalis* from Denmark. *Science of the total environment*, **409**, 2373-2378.
- Empson, R.A. & Miskelly, C.M. (1999) The risks, costs and benefits of using brodifacoum to eradicate rats from Kapiti island, New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology*, **23**, 241-254.
- Erickson, W. & Urban, D. (2004) *Potential Risks of Nine Rodenticides to Birds and Nontarget Mammals: A Comparative Approach*. United States Environmental Protection Agency Washington DC 20460.
- Escutenaire, S., Chalon, P., De Jaegere, F., Karelle-Bui, L., Mees, G., Brochier, B., Rozenfeld, F. & Pastoret, P.P. (2002) Behavioral, physiologic, and habitat influences on the dynamics of Puumala virus infection in bank voles (*Clethrionomys glareolus*). *Emerging Infectious Diseases*, **8**, 930-936.
- European Chemicals Bureau (2008) *Technical guidance document in support of the Directive 98/8/EC concerning the placing of biocidal products on the market. Guidance on data requirements for active substances and biocidal products*. European Union.

- European Commission (2007) *Risk mitigation measures for anticoagulants used as rodenticides. CA-March07-Doc.6.3 – final – revised after 33rd CA meeting*. European Union.
- European Commission (2010) *COMMISSION DIRECTIVE 2010/10/EU of 9 February 2010 amending Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council to include brodifacoum as an active substance in Annex I thereto*. European Union.
- European Commission (2011) *Manual of decisions for implementation of Directive 98/8/EC concerning the placing on the market of biocidal products*. European Union.
- European Commission Health & Consumers Directorate General (2010) *Review report for the active substance zinc phosphide finalised in the Standing Committee on the Food Chain and Animal Health at its meeting on 28 October 2010 in view of the inclusion of zinc phosphide to Annex I of Directive 91/414/EEC*. European Union.
- European Community (2003) *Emission scenario document for biocides used as rodenticides CA-Jun03-Doc.8.2-PT14. EUBEES*. European Commission, Brussels.
- European Food Safety Authority (2009) Guidance Document on Risk Assessment for Birds and Mammals on request from EFSA. *EFSA Journal*, **7** (12), 141 p.
- European Union (2009) *MEMO/09/275. Questions and answers on the new biocides regulation*. European Union.
- European Union (2009) *MEMO/09/8. Questions and Answers on Plant Protection Products*. European Union.
- European Union (2009) *Technical Notes for Guidance on Product Evaluation. Appendices to Chapter 7. Product Type 14. Efficacy Evaluation of Rodenticidal Biocidal Products*. European Union.

-F-

- Fabre, D., Fevrier, F. & Cabanettes, J. (2011) *RAPPORT sur le suivi des produits phytopharmaceutiques après autorisation de mise en marché*. Conseil général de l'alimentation, de l'agriculture et des espaces ruraux.
- Faivre, J., Dancourt, V. & Lejeune, C. (2012) Screening for colorectal cancer with immunochemical faecal occult blood tests. *Digestive and Liver Disease*, **44**, 967-973.
- Ferreras, P., Travaini, A., Zapata, S.C. & Delibes, M. (2011) Short-term responses of mammalian carnivores to a sudden collapse of rabbits in Mediterranean Spain. *Basic and Applied Ecology*, **12**, 116-124.
- Fisher, P. (2009) *Residual concentrations and persistence of the anticoagulant rodenticides brodifacoum and diphacinone in fauna*. PhD Thesis, Université de Lincoln, Nouvelle-Zélande.
- Fisher, P.M., Booth, L.H., Brown, L.E. & Campion, M. (2012) Anticoagulant rodenticides in New Zealand birds - so what?. In 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin.
- Fourel, I., Hugnet, C., Goy-Thollot, I. & Berny, P. (2010) Validation of a New Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Ion-Trap Technique for the Simultaneous Determination of Thirteen Anticoagulant Rodenticides, Drugs, or Natural Products. *Journal of Analytical Toxicology*, **34**, 95-102.
- Frey, C., Sonnay, C., Dreiss, A. & Roulin, A. (2011) Habitat, breeding performance, diet and individual age in Swiss Barn Owls (*Tyto alba*). *Journal of Ornithology*, **152**, 279–290.

-G-

- Gabriel, M.W., Woods, L.W., Poppenga, R., Sweitzer, R.A., Thompson, C., Matthews, S.M., Higley, J.M., Keller, S.M., Purcell, K., Barrett, R.H., Wengert, G.M., Sacks, B.N. & Clifford, D.L. (2012) Anticoagulant Rodenticides on our Public and Community Lands: Spatial Distribution of Exposure and Poisoning of a Rare Forest Carnivore. *Plos One*, **7** (7), 1-15.

- Gauffre, B., Petit, E., Brodier, S., Bretagnolle, V. & Cosson, J.F. (2009) Sex-biased dispersal patterns depend on the spatial scale in a social rodent. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **276**, 3487-3494.
- Geiger, F., Bengtsson, J., Berendse, F., Weisser, W.W., Emmerson, M., Morales, M.B., Ceryngier, P., Liira, J., Tschamntke, T., Winqvist, C., Eggers, S., Bommarco, R., Part, T., Bretagnolle, V., Plantegenest, M., Clement, L.W., Dennis, C., Palmer, C., Onate, J.J., Guerrero, I., Hawro, V., Aavik, T., Thies, C., Flohre, A., Hanke, S., Fischer, C., Goedhart, P.W. & Inchausti, P. (2010) Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland. *Basic and Applied Ecology*, **11**, 97-105.
- Genovesi, P. (2005) Eradications of invasive alien species in Europe: a review. *Biological Invasions*, **7**, 127-133.
- Gentle, M.N., Saunders, G.R. & Dickman, C.R. (2007) Poisoning for production: how effective is fox baiting in south-eastern Australia?. *Mammal Review*, **37**, 177-190.
- Germain, E., Benhamou, S. & Poulle, M.-. (2008) Spatio-temporal sharing between the European wildcat, the domestic cat and their hybrids. *Journal of Zoology*, **276**, 195-203.
- Germain, E., Ruetten, S. & Poulle, M.L. (2009) Likeness between the food habits of European wildcats, domestic cats and their hybrids in France. *Mammalian Biology*, **74**, 412-417.
- Gibbs, K.E., Mackey, R.L. & Currie, D.J. (2009) Human land use, agriculture, pesticides and losses of imperiled species. *Diversity and Distributions*, **15**, 242-253.
- Gilliom, R.J., Barbash, J.E., Crawford, C.G., Hamilton, P.A., Martin, J.D., Nakagaki, N., Nowell, L.H., Scott, J.C., Stackelberg, P.E., Thelin, G.P. & Wolock, D.M. (2006) *Pesticides in the Nation's Streams and Ground Water, 1992–2001*. U.S. Geological Survey Circular 1291.
- Giraudoux, P. (1991) *Utilisation de l'espace par les hôtes du ténia multiloculaire (Echinococcus multilocularis) : conséquences épidémiologiques*. PhD thesis, Université de Bourgogne.
- Giraudoux, P. (2013) *pgirmess: Data analysis in ecology. Version 1.5.7*. <http://perso.orange.fr/giraudoux>.
- Giraudoux, P., Coeurdassier, M., Raoul, F., Couval, G., Jacquot, M. & Truchetet, D. (2012) Sustainable control of grassland small mammals: reducing the need for rodenticides and the risk for non-target species by a multi-scale approach. In 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin.
- Giraudoux, P., Delattre, P., Habert, M., Quere, J.P., Deblay, S., Defaut, R., Duhamel, R., Moissenet, M.F., Salvi, D. & Truchetet, D. (1997) Population dynamics of fossorial water vole (*Arvicola terrestris* sherman): a land usage and landscape perspective. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **66**, 47-60.
- Giraudoux, P., Delattre, P., Quere, J.P. & Damange, J.P. (1994) Structure and kinetics of rodent populations, in a region under agritural land abandonment. *Acta Oecologica*, **15**, 385-400.
- Giraudoux, P., Delattre, P., Takahashi, K., Raoul, F., Quéré, J.P., Craig, P. & Vuitton, D. (2002) Transmission ecology of *Echinococcus multilocularis* in wildlife : what can be learned from comparative studies and multi-scale approaches ?. *Cestode zoonoses : an emergent and global problem*. (eds. P. Craig & Z. Pawlowski), pp. 251-262. NATO Sciences Series, IOS press, Amsterdam.
- Giraudoux, P., Pradier, B., Delattre, P., Deblay, S., Salvi, D. & Defaut, R. (1995) Estimation of water vole abundance by using surface indices. *Acta Theriologica*, **40**, 77-96.
- Giraudoux, P., Tremolières, C., Barbier, B., Defaut, R., Rieffel, D., Bernard, N., Lucot, E. & Berny, P. (2006) Persistence of bromadiolone anticoagulant rodenticide in *Arvicola terrestris* populations after field control. *Environmental Research*, **102**, 291-298.
- Grandemange, A. (2009) *Résistance aux anticoagulants antivitaminiques K chez les rongeurs. Aspects pharmacologiques, génétiques et biochimiques*. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard Lyon I.

- Gras, L.M., Patergnani, M. & Farina, M. (2012) Poison-Based Commensal Rodent Control Strategies in Urban Ecosystems: Some Evidence Against Sewer-Baiting. *Ecohealth*, **9**, 75-79.
- Gray, A., Eadsforth, C.V. & Dutton, A.J. (1994) Non-invasive methode for monitoring the exposure of Barn Owls to second-generation rodenticides. *Pestic Sci*, **41**, 339-343.
- Gómez Villafañe, I.E. & Busch, M. (2007) Spatial and temporal patterns of brown rat (*Rattus norvegicus*) abundance variation in poultry farms. *Mammalian Biology - Zeitschrift fur Saugetierkunde*, **72**, 364-371.
- H-**
- Harradine, J.P. (1976) *Anticoagulant Rodenticides and Non-target Wildlife: An Ecological Evaluation of Permanent Baiting in Rural Rat Control*. PhD thesis, University of Edinburgh.
- Harris, J. & McCartor, A. (2011) *The World's Worst Toxic Pollution Problems Report 2011. The Top Ten of the Toxic Twenty*. Blacksmith Institute's.
- Harris, S., Morris, P., Wray, S. & Yalden, D. (1995) *A review of British mammals: population estimates and conservation status of British mammals other than cetaceans*, Joint Nature Conservation Committee, Manchester, M13 9PL.
- Health and Safety Executive (2012) *Environmental Risk Mitigation Measures for Second Generation Anticoagulant Rodenticides proposed by the UK - Stakeholder engagement*. United Kingdom Government.
- Henry, C., Poulle, M.L. & Roeder, J.J. (2005) Effect of sex and female reproductive status on seasonal home range size and stability in rural red foxes (*Vulpes vulpes*). *Ecoscience*, **12**, 202-209.
- Heydon, M. & Reynolds, J. (2000) Demography of rural foxes (*Vulpes vulpes*) in relation to cull intensity in three contrasting regions of Britain. *Journal of Zoology*, **251**, 265-276.
- Hijmans, R.J. & van Etten, J. (2013) *raster: Geographic data analysis and modeling. Version 2.1-25*. <http://cran.r-project.org/web/packages/raster/>.
- Hillocks, R.J. & Cooper, J.E. (2012) Integrated pest management - can it contribute to sustainable food production in Europe with less reliance on conventional pesticides?. *Outlook on Agriculture*, **41**, 237-242.
- Hindmarch, S. & Elliott, J. (2012) Investigating the potential risk of secondary rodenticide poisoning to urban owls inhabiting and foraging in urban landscapes of the Lower Mainland, British Columbia, Canada. In 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin.
- Holmstrup, M., Bindsbol, A., Oostingh, G.J., Duschl, A., Scheil, V., Koehler, H., Loureiro, S., Soares, A.M.V.M., Ferreira, A.L.G., Kienle, C., Gerhardt, A., Laskowski, R., Kramarz, P.E., Bayley, M., Svendsen, C. & Spurgeon, D.J. (2010) Interactions between effects of environmental chemicals and natural stressors: A review. *Science of the total environment*, **408**, 3746-3762.
- Howald, G., Donlan, C.J., Galvan, J.P., Russell, J.C., Parkes, J., Samaniego, A., Wang, Y.W., Veitch, D., Genovesi, P., Pascal, M., Saunders, A. & Tershy, B. (2007) Invasive rodent eradication on islands. *Conservation Biology*, **21**, 1258-1268.
- Howald, G.R., Mineau, P., Elliott, J.E. & Cheng, K.M. (1999) Brodifacoum Poisoning of Avian Scavengers During Rat Control on a Seabird Colony. *Ecotoxicology*, **8**, 431-447.
- Hughes, J. (2012) *Pesticide Usage in Scotland. Rodenticides on Arable Farms 2000 to 2010*. Scottish Government.
- Hughes, J., Sharp, E., Taylor, M.J., Melton, L. & Hartley, G. (2013) Monitoring agricultural rodenticide use and secondary exposure of raptors in Scotland. *Ecotoxicology*, **online**, 1-13.
- Huguet, X. (1998) *Intoxication par la bromadiolone. Etude épidémiologique et clinique d'après les données du C.N.I.T.V Lyon et du laboratoire de toxicologie de l'E.N.V.L de 1991 à 1996*. Thèse vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon.

-I-

Inserm (2013) Pesticides. Effets sur la santé. Exeprtise collective. Synthèse et recommandations. Institut national de la santé et de la recherche médicale, www.inserm.fr.

-J-

Jaksic, F.M. & Lima, M. (2003) Myths and facts on ratadas: Bamboo blooms, rainfall peaks and rodent outbreaks in South America. *Austral Ecology*, **28**, 237-251.

-K-

Kapoor, M., Kelejian, H.H. & Prucha, I.R. (2007) Panel data model with spatially correlated error components. *Journal of Econometrics*, **140**, 97-130.

Kidawa, D. & Kowalczyk, R. (2011) The effects of sex, age, season and habitat on diet of the red fox *Vulpes vulpes* in northeastern Poland. *Acta Theriologica*, **56**, 209-218.

Knopper, L., Mineau, P., Walker, L. & Shore, R.F. (2007) Bone Density and Breaking Strength in UK Raptors Exposed to Second Generation Anticoagulant Rodenticides. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **78**, 249-251.

Knott, J., Newbery, P. & Barov, B. (2009) *Species action plan for the red kite Milvus milvus in the European Union*. European commission of Brussel.

Knowlton, F.F. & Olmstead, S.R. (2001) Using iophenoxic acid injections of prey to identify mammals that feed on them. *Wildlife Society Bulletin*, **29**, 495-500.

Kolfclauw, M., Alvarez, E. & Matray, O. (1995) Anticoagulant rodenticide poisoning - Etiology, diagnosis and treatment. *Recueil De Medecine Veterinaire*, **171**, 127-134.

Korpimäki, E., Brown, P.R., Jacob, J. & Pech, R.P. (2004) The puzzles of population cycles and outbreaks of small mammals solved?. *Bioscience*, **54** (12), 1071-1079.

Kupper, J., Grobosch, T., Kistler, R., Sydler, T. & Naegeli, H. (2006) Bromadiolone poisoning in foxes. *Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde*, **148**, 405-408.

-L-

LPO (2012) *Le milan royal toujours sous la menace de la bromadiolone*. (in French) <http://www.lpo.fr/communiqu%C3%A9/le-milan-royal-toujours-sous-la-menace-de-la-bromadiolone> [accessed on 06/04/2012]. Ligue de protection des Oiseaux, France.

Laakso, S., Suomalainen, K. & Koivisto, S. (2010) Literature Review on Residues of Anticoagulant Rodenticides in Non-Target Animals. *TemaNord*, **541**, 1-47.

Lamarque, F., Artois, M., Berny, P. & Hatier, C. (1999) Réseau SAGIR: douze ans de toxicovigilance. *Bulletin Mensuel Office National de la Chasse*, **246**, 18-26.

Lambert, M.S., Quay, R.J., Smith, R.H. & Cowan, D.P. (2008) The effect of habitat management on home-range size and survival of rural Norway rat populations. *Journal of Applied Ecology*, **45**, 1753-1761.

Lambert, O., Pouliquen, H., Larhantec, M., Thorin, C. & L'Hostis, M. (2007) Exposure of raptors and waterbirds to anticoagulant rodenticides (Difenacoum, bromadiolone, coumatetralyl, coumaten, brodifacoum): Epidemiological survey in Loire-Atlantique (France). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **79**, 91-94.

Lanszki, J. & Heltai, M. (2002) Feeding habits of golden jackal and red fox in south-western Hungary during winter and spring. *Mammalian Biology*, **67**, 129-136.

Larsen, J. (2003) Emission scenario document for biocides used as rodenticides (Supplement to the methodology for risk evaluation of biocides). *Danish EPA, Doc.8.2-PT14*, 74pp.

- Lasseur, R., Grandemange, A., Longin-Sauvageon, C., Berny, P. & Benoit, E. (2007) Comparison of the inhibition effect of different anticoagulants on vitamin K epoxide reductase activity from warfarin-susceptible and resistant rat. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **88**, 203-208.
- Lemus, J.A., Bravo, C., Garcia-Montijano, M., Palacin, C., Ponce, C., Magana, M. & Alonso, J.C. (2011) Side effects of rodent control on non-target species: Rodenticides increase parasite and pathogen burden in great bustards. *Science of the total environment*, **409**, 4729-4734.
- Lewin-Koh, N.J. & Bivand, R. (2012) *Package maptools*. <http://cran.r-project.org/>
- Lozano, J., Moleon, M. & Virgos, E. (2006) Biogeographical patterns in the diet of the wildcat, *Felis silvestris* Schreber, in Eurasia: factors affecting the trophic diversity. *Journal of Biogeography*, **33**, 1076-1085.
- M-**
- Macdonald, D.W., Tew, T.E., Todd, I.A., Garner, J.P. & Johnson, P.J. (2000) Arable habitat use by wood mice (*Apodemus sylvaticus*). 3. A farm-scale experiment on the effects of crop rotation. *Journal of Zoology*, **250**, 313-320.
- Mason, G. & Littin, K.E. (2003) The humaneness of rodent pest control. *Animal welfare*, **12**, 1-37.
- Massicotte, P., Mitchell, L. & Andrew, M. (1986) A comparative study of coagulation systems in newborn animals. *Pediatric Research*, **20**, 961 - 965.
- Mateo, R., Sánchez-Barbudo, I. & Camarero, P.R. (2013) Intentional and accidental poisoning of wild and domestic animals in Spain. In 23rd SETAC Europe Annual Meeting, 12-16 May 2013, Glasgow.
- Meerburg, B.G., Singleton, G.R. & Kijlstra, A. (2009) Rodent-borne diseases and their risks for public health. *Critical Reviews in Microbiology*, **35**, 221-270.
- Meerburg, B.G., Singleton, G.R. & Leirs, H. (2009) The Year of the Rat ends - time to fight hunger!. *Pest Management Science*, **65**, 351-352.
- Meia, J.S. & Weber, J.M. (1995) Home ranges and movements of red foxes in central Europe: Stability despite environmental changes. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, **73**, 1960-1966.
- Mendenhall, V.M. & Pank, L.F. (1980) Secondary poisoning of owls by anticoagulant rodenticides. *Wildlife Society Bulletin*, **8 (4)**, 311-315.
- Menger, H., Lin, A., Toriello, H., Bernert, G. & Spranger, J. (1997) Vitamin K deficiency embryopathy: a phenocopy of the warfarin embryopathy due to a disorder of embryonic vitamin K metabolism. *Am Journal of Medical Genetics*, **72**, 129-134.
- Meyer, A. (2012) *Critical Review of the "Environmental Risk Mitigation Measures for Second Generation Anticoagulant Rodenticides" proposed by the HSE*. UK National Pest Advisory Panel of the Chartered Institute of Environmental Health.
- Michaux, J.R., Kinet, S., Filippucci, M.G., Libois, R., Besnard, A. & Catzeffis, F. (2001) Molecular identification of three sympatric species of wood mice (*Apodemus sylvaticus*, *A-flavicollis*, *A-alpicola*) in western Europe (*Muridae : Rodentia*). *Molecular Ecology Notes*, **1**, 260-263.
- Michelat, D. & Giraudoux, P. (2006) Synchrony between small mammal population dynamics in marshes and adjacent grassland in a landscape of the Jura plateau, France: a ten year investigation. *Acta Theriologica*, **51**, 155-162.
- Millenium Ecosystem Assesment (2005) *Ecosystems and Human Well-being: Biodiversity Synthesis*. World Resources Institute, Washington, DC.
- Millo, G. & Piras, G. (2012) splm: Spatial Panel Data Models in R. *Journal of Statistical Software*, **47**, 1-38.

- Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt (2012) *Version en consultation publique de l'arrêté relatif au contrôle des populations de campagnols et de mulots nuisibles aux cultures, ainsi qu'aux conditions d'emploi des produits phytopharmaceutiques contenant de la bromadiolone*. République française.
- Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt (2013) *Catalogue des usages actuels. Lutte contre les rongeurs*. <http://e-phy.agriculture.gouv.fr/>, consulté le 24/07/2013.
- Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (2002) Arrêté ministériel du 17 décembre 2001 relatif aux conditions d'emploi de la bromadiolone pour la lutte contre le campagnol terrestre. *J.O*, n° **25 du 30 janvier 2002**, 2015-2016.
- Monadjem, A., Mahlaba, T.A., Dlamini, N., Eiseb, S.J., Belmain, S.R., Mulungu, L.S., Massawe, A.W., Makundi, R.H., Mohr, K. & Taylor, P.J. (2011) Impact of crop cycle on movement patterns of pest rodent species between fields and houses in Africa. *Wildlife Research*, **38**, 603-609.
- Montaz, J. (2012) *Mesure expérimentale de la consommation de carcasses de campagnols terrestres suite à un traitement à la bromadiolone*. Mémoire de Master 1, Université de Franche-Comté.
- Montaz, J. (2013) *Evaluation de la persistance des rodenticides anticoagulants dans le sang d'oiseaux et mise au point d'un protocole de surveillance de l'exposition du Milan royal à des substances toxiques*. Mémoire de Master 2, Université de Franche-Comté.
- Montaz, J., Jacquot, M. & Coeurdassier, M. (2012) Mesure expérimentale de la consommation de carcasses de campagnols terrestres suite à un traitement à la bromadiolone. In Colloque de la Société française d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquée, Lyon.
- Monterroso, P., Castro, D., Silva, T.L., Ferreras, P., Godinho, R. & Alves, P.C. (2013) Factors affecting the (in)accuracy of mammalian mesocarnivore scat identification in South-western Europe. *Journal of Zoology*, **289**, 243-250.
- Moriarty, J.G. & Riley, S.P.D. (2012) Exposure of Wildlife to Anticoagulant Rodenticides at Santa Monica Mountains National Recreation Area: From Mountain Lions to Rodents. In 25th Vertebrate Pest Conference (March 5-8 2012), Monterey, California, USA.
- Mougeot, F., Garcia, J.T. & Viñuela, J. (2011) Breeding biology, behaviour, diet and conservation of the red kite (*Milvus milvus*), with particular emphasis on Mediterranean populations in Ecology and conservation of European dwelling forest raptors and owls. Ecology and conservation of European dwelling forest raptors and owls. (eds. I. Zuberogitia & J.E. Martínez), pp. 190-204. Editorial Diputación Foral de Vizcaya, Bilbao Spain.
- Mount, M.E., Kim, B.U. & Kass, P.H. (2003) Use of a test for proteins induced by vitamin K absence or antagonism in diagnosis of anticoagulant poisoning in dogs: 325 cases (1987-1997). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **222**, 194-198.
- Munday, J.S. & Thompson, L.J. (2003) Brodifacoum Toxicosis in Two Neonatal Puppies. *Veterinary Pathology*, **40**, 216 - 219.
- Murphy, E., Clapperton, B., Bradfield, P.M. & Speed, H.J. (1998) Brodifacoum residues in target and non-target animals following large-scale poison operations in New Zealand podocarp-hardwood forests. *New Zealand Journal of Zoology*, **25**, 307-314.
- Murray, M. (2011) Anticoagulant rodenticide exposure and toxicosis in four species of birds of prey presented to a wildlife clinic in massachusetts, 2006-2010. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, **42**, 88-97.
- Murray, M. & Tseng, F. (2008) Diagnosis and treatment of secondary anticoagulant rodenticide toxicosis in a red-tailed hawk (*Buteo jamaicensis*). *Journal of Avian Medicine and Surgery*, **22**, 41-46.
- N-**
- Naim, M., Noor, H.M., Kasim, A. & Abu, J. (2010) Growth performance of nestling barn owls, *Tyto alba javanica* in rat baiting area in Malaysia. *ARPJ Journal of Agricultural and Biological Science*, **5** (6), 1-13.

- Napolitano, C., Bennett, M., Johnson, W.E., O'Brien, S.J., Marquet, P.A., Barria, I., Poulin, E. & Iriarte, A. (2008) Ecological and biogeographical inferences on two sympatric and enigmatic Andean cat species using genetic identification of faecal samples. *Molecular Ecology*, **17**, 678-690.
- Newton, I., Shore, R.F., Wyllie, I., Birks, J.D.S. & Dale, L. (1999) Empirical evidence of side-effects of rodenticides on some predatory bird and mammals. *Advances vertebrate pest management*. (eds. D .P. Cowand & C .J. Feare), pp. 347-367. Filander Verlag GmbH, Germany.
- Norrdahl, K. & Korpimäki, E. (1998) Does mobility or sex of voles affect risk of predation by mammalian predators?. *Ecology*, **79**, 226-232.
- Ntampakis, D. & Carter, I. (2005) Red Kites and rodenticides – a feeding experiment . *British Birds*, **98**, 411-416.

-O-

- O'Connor, C.E. & Eason, C.T. (2000) Rodent baits and delivery systems for island protection. *Science for conservation*, **150**, 1-25.
- OECD Environment Directorate (2009) *OECD strategic approach in pesticide risk reduction*. Organisation for Economic Co-operation and Development.
- Oerke, E.C. (2005) Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science*, **144**, 31-43.
- Olea, P.P., Sanchez-Barbudo, I.S., Vinuela, J., Barja, I., Mateo-Tomas, P., Pineiro, A., Mateo, R. & Purroy, F.J. (2009) Lack of scientific evidence and precautionary principle in massive release of rodenticides threatens biodiversity: old lessons need new reflections. *Environmental Conservation*, **36**, 1-4.

-P-

- Padial, J.M., Avila, E. & Gil-Sanchez, J.M. (2002) Feeding habits and overlap among red fox (*Vulpes vulpes*) and stone marten (*Martes foina*) in two Mediterranean mountain habitats. *Mammalian Biology*, **67**, 137-146.
- Paz, A., Jareno, D., Arroyo, L., Vinuela, J., Arroyo, B., Mougeot, F., Luque-Larena, J.J. & Fargallo, J.A. (2013) Avian predators as a biological control system of common vole (*Microtus arvalis*) populations in north-western Spain: experimental set-up and preliminary results. *Pest Management Science*, **69**, 444-450.
- Pebesma, E.J. & Bivand, R.S. (2005) Classes and methods for spatial data in R. *R News*, **5**, 9-13.
- Pereira, F. (2010) *Incidência de rodenticidas em aves de rapina: estudo de prevalência e possíveis efeitos secundários*. PhD Thesis, Universidade Técnica de Lisboa.
- Petterino, C. & Paolo, B. (2001) Scientific reviews - Toxicology of various anticoagulant rodenticides in animals. *Vet. Human Toxicol*, **46**, 353-360.
- Pettorelli, N., Coulson, T., Durant, S.M. & Gaillard, J. (2011) Predation, individual variability and vertebrate population dynamics. *Oecologia*, **167**, 305-314.
- Piggott, M.P. (2004) Effect of sample age and season of collection on the reliability of microsatellite genotyping of faecal DNA. *Wildlife Research*, **31**, 485-493.
- Pimentel, D.(. (2007) *Encyclopedia of Pest Management. Volume II*, edn. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D. & R Development Core Team (2012) nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-105..
- Pitt, W.C., Higashi, M. & Primus, T.M. (2011) The effect of cooking on diphacinone residues related to human consumption of feral pig tissues. *Food and chemical toxicology*, **49**, 2030-2034.

- Plaquin, B. & Clerc, D. (2009) *RESEAU SAGIR: suivi sanitaire de la faune sauvage bilan 2008, département du DOUBS*. Office National de la Faune Sauvage et Fédération Départementale des Chasseurs du Doubs.
- Pompanon, F., Deagle, B.E., Symondson, W.O.C., Brown, D.S., Jarman, S.N. & Taberlet, P. (2012) Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. *Molecular Ecology*, **21**, 1931-1950.
- Prat-Mairet, Y. (2012) *Persistance des rodenticides anticoagulants dans les fèces de renards. Évaluation de la conservation du signal pour une mesure de l'exposition en nature*. Mémoire de Master 2, Université de Franche-Comté.
- Predatory Bird Monitoring Scheme (2011) *Welcome to the PBMS website*. <https://wiki.ceh.ac.uk/display/pbms/Home>, site visité le 14/03/2013.
- Pretty, J. (2008) Agricultural sustainability: concepts, principles and evidence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, **363**, 447-465.
- Programme des Nations Unies pour l'environnement (2007) *Global Environment Outlook 4 (GEO-4). L'environnement pour le développement*. Progress Press, Ltd. Valleta, Malta.
- Proulx, G. (2011) Field evidence of non-target and secondary poisoning by strychnine and chlorophacinone used to control Richardson's ground squirrels in southwest Saskatchewan. In: Danyluk D, ed. , pp. 128–34.. In Proceedings of the 9th Prairie Conservation and Endangered Species Conference: Patterns of Change, 25-27 Feb 2010, Winnipeg, MB.
- Proulx, G. & MacKenzie, N. (2012) Relative abundance of American badger (*Taxidea taxus*) and red fox (*Vulpes vulpes*) in landscapes with high and low rodenticide poisoning levels. *Integrative Zoology*, **7**, 41-47.
- Préfet du Doubs (2007) *Arrêté n° 2007-2802-01100. Arrêté relatif à la lutte contre le Campagnol Terrestre (Arvicola terrestris L.) en particulier aux conditions d'emploi de la bromadiolone dans les communes du département du Doubs*. Préfecture du Doubs.
- Puan, C.L., Goldizen, A.W., Zakaria, M., Hafidzi, M.N. & Baxter, G.S. (2011) Absence of differential predation on rats by malaysian barn owls in oil palm plantations. *Journal of Raptor Research*, **45**, 71-78.

-Q-

- Quantum GIS Development Team (2012) *Quantum GIS Geographic Information System*. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>.
- Quantum GIS Development Team (2012) *Quantum GIS Geographic Information System*. Open Source Geospatial Foundation Project ,. <http://qgis.osgeo.org>.
- Quéré, J. & Le Louarn, H. (2011) *Les rongeurs de France. Faunistique et biologie.*, Edition Quae, Versailles, France.
- Quéré, J.P. & Vincent, J.P. (1989) Détermination de l'âge chez le Mulot gris par la pesée des cristallins. *Mammalia*, **53(2)**, 287-293.

-R-

- R Development Core Team (2010) *A Language and Environment for Statistical Computing*. Foundation for Statistical Computing ,Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>.
- R Development Core Team (2013) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, <http://www.R-project.org>.
- Rahelinirina, S., Duplantier, J.M., Ratovonjato, J., Ramilijaona, O., Ratsimba, M. & Rahalison, L. (2010) Study on the Movement of *Rattus rattus* and Evaluation of the Plague Dispersion in Madagascar. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, **10**, 77-84.

- Rahelinirina, S., Duplantier, J.M., Ratsimba, M., Ratovonjato, J., Ramilijaona, O., Papillon, Y. & Rahalison, L. (2010) Assessment of Rhodamine B for labelling the plague reservoir *Rattus rattus* in Madagascar. *African Journal of Ecology*, **48**, 662-666.
- Rajska-Jurgiel, E. (2000) Breeding dispersal in *Clethrionomys glareolus* females. *Acta Theriologica*, **45**, 367-376.
- Raoul, F., Chandosné, C., Defaut, R., Morin, C., Weidmann, J. & Giraudoux, P. (2009) Monitoring des proies et de la communauté de prédateurs. *Le campagnol terrestre. Prévention et contrôle des populations..* (coord. P. Delattre & P. Giraudoux), pp. 89-99., Editions Quae, Versailles.
- Raoul, F., Defaut, R., Michelat, D., Montadert, M., Pépin, D., Quéré, J.P., Tissot, B., Delattre, P. & Giraudoux, P. (2001) Landscape effects on the population dynamics of small mammal communities: A preliminary analysis of prey-resource variations. *Revue D Ecologie-La Terre Et La Vie*, **56**, 339-352.
- Raoul, F., Deplazes, P., Rieffel, D., Lambert, J.C. & Giraudoux, P. (2010) Predator dietary response to prey density variation and consequences for cestode transmission. *Oecologia*, **164**, 129-139.
- Raoul, F., Michelat, D., Ordinaire, M., Decote, Y., Aubert, M., Delattre, P., Deplazes, P. & Giraudoux, P. (2003) *Echinococcus multilocularis*: secondary poisoning of fox population during a vole outbreak reduces environmental contamination in a high endemicity area. *International Journal for Parasitology*, **33**, 945-954.
- Rattner, B., Horak, K., Warner, S., Day, D., Meteyer, C., Volker, S., Eisemann, J. & Johnston, J. (2011) Acute toxicity, histopathology, and coagulopathy in American kestrels (*Falco sparverius*) following administration of the rodenticide diphacinone. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **30** (5), 1213-1222.
- Rattner, B.A. (2009) History of wildlife toxicology. *Ecotoxicology*, **18**, 773-783.
- Rattner, B.A., Horak, K.E., Lazarus, R.S., Eisemann, J.D., Johnston, J.J. & Vyas, N.B. (2012) Reflections on the risk of first generation Anticoagulant Rodenticides to Raptors. In 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, Germany.
- Rattner, B.A., Horak, K.E., Warner, S.E. & Johnston, J.J. (2010) Acute toxicity of diphacinone in Northern bobwhite: Effects on survival and blood clotting. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **73**, 1159-1164.
- Rattner, B.A., Lazarus, R.S., Horak, K.E., Volker, S.F., Goldade, D.A., Hoffman, N. & Johnston, J.J. (2013) Clotting time recovery and tissue residues following cessation of exposure to the anticoagulant rodenticide diphacinone in Eastern screech-owls (*Megascops asio*). In 23rd Annual Meeting of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Glasgow.
- Razzauti, M., Plyusnina, A., Henttonen, H. & Plyusnin, A. (2008) Accumulation of point mutations and reassortment of genomic RNA segments are involved in the microevolution of Puumala hantavirus in a bank vole (*Myodes glareolus*) population. *Journal of General Virology*, **89**, 1649-1660.
- Riegert, J., Lovy, M. & Fainova, D. (2009) Diet composition of Common Kestrels *Falco tinnunculus* and Long-eared Owls *Asio otus* coexisting in an urban environment. *Ornis Fennica*, **86**, 123-130.
- Riley, S.P.D., Bromley, C., Poppenga, R.H., Uzal, F.A., Whited, L. & Sauvajot, R.M. (2007) Anticoagulant exposure and notoedric mange in bobcats and mountain lions in urban southern California. *Journal of Wildlife Management*, **71**, 1874-1884.
- Rodrigues, J.P. (2006) *Intoxication des carnivores domestiques par les rodenticides anticoagulants - Etude épidémiologique d'après les données du C.N.I.T.V. de 1993 à 2004 et influence de la résistance des rats aux anticoagulants*. Thèse vétérinaire, Université Claude Bernard Lyon I, Lyon.
- Ruder, M.G., Poppenga, R.H., Bryan, J.A., Bain, M., Pitman, J. & Keel, M.K. (2011) Intoxication of Nontarget Wildlife with Rodenticides in Northwestern Kansas. *Journal of Wildlife Diseases*, **47**, 212-216.

- Ruette, S., Stahl, P. & Albaret, M. (2003) Applying distance-sampling methods to spotlight counts of red foxes. *Journal of Applied Ecology*, **40**, 32-43.
 - Russell, A.J.M. & Storch, I. (2004) Summer food of sympatric red fox and pine marten in the German Alps. *European Journal of Wildlife Research*, **50**, 53-58.
- S-
- SAGIR (unpublished data) *Traitements bromadiolone et évolution de la mortalité de la faune non cible dans le département du Doubs de 1997 à 2008*. Office National de la Chasse et de la Faune sauvage.
- SAGIR (1993-2012) *Traitement de campagnols aux anticoagulants. Evaluation de la mortalité de la faune non cible dans le Doubs et l'Auvergne*. Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage.
- SKD France (2006) *Hemocult II®. Test pour la recherche de sang dans les selles. Informations et instructions d'Utilisation. Dépistage organisé pour 800 patients*. www.skdfrance.com.
- Sage, M. (2008) *Transfert de bromadiolone (appâts/sols – campagnols de prairie – renards) : Etude environnementale de la persistance et mesure indirecte de l'exposition*. thèse de doctorat, Université de Franche-Comté.
- Sage, M., Coeurdassier, M., Defaut, R., Gimbert, F., Berny, P. & Giraudoux, P. (2008) Kinetics of bromadiolone in rodent populations and implications for predators after field control of the water vole, *Arvicola terrestris*. *Science of the Total Environment*, **407**, 211-222.
- Sage, M., Coeurdassier, M., Defaut, R., Lucot, E., Barbier, B., Rieffel, D., Berny, P. & Giraudoux, P. (2007) How environment and vole behaviour may impact rodenticide bromadiolone persistence in wheat baits after field controls of *Arvicola terrestris*?. *Environmental Pollution*, **148**, 372-379.
- Sage, M., Fourel, I., Coeurdassier, M., Barrat, J., Berny, P. & Giraudoux, P. (2010) Determination of bromadiolone residues in fox faeces by LC/ESI-MS in relationship with toxicological data and clinical signs after repeated exposure. *Environmental Research*, **110**, 664-674.
- Salmon, T.P. & Marsh, R.E. (1979) Age as a factor in rodent susceptibility to rodenticides: a review. *Vertebrate pest control and management materials*. (ed J .R. Beck), pp. 84–99. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA.
- Sanchez-Barbudo, I.S., Camarero, P.R. & Mateo, R. (2012) Primary and secondary poisoning by anticoagulant rodenticides of non-target animals in Spain. *Science of the Total Environment*, **420**, 280-288.
- Saucy, F., Meylan, A. & Poitry, R. (2001) Lessons from 18 years of use of anticoagulants against fossorial *Arvicola terrestris* in Switzerland. *Advances in vertebrate pest management II*. (eds J. Pelz, P. Cowan & C. Feare), pp. 71-90. Filander Verlag, Fürth.
- Savarie, P.J., Johns, B.E. & Gaddis, S.E. (1992) A review of chemical and particle marking agents used for studying vertebrate pests. *Proceedings of the Fifteenth Vertebrate Pest Conference 1992*, **article 66**, 252-257.
- Shehzad, W., Riaz, T., Nawaz, M.A., Miquel, C., Poillot, C., Shah, S.A., Pompanon, F., Coissac, E. & Taberlet, P. (2012) Carnivore diet analysis based on next-generation sequencing: application to the leopard cat (*Prionailurus bengalensis*) in Pakistan. *Molecular Ecology*, **21**, 1951-1965.
- Shore, R.F., Birks, J.D.S., Afsar, A., Wienburg, C.L. & Kitchener, A.C. (2003) Spatial and temporal analysis of second-generation anticoagulant rodenticide residues in polecats (*Mustela putorius*) from throughout their range in Britain, 1992-1999. *Environmental Pollution*, **122**, 183-193.
- Shore, R.F., Malcolm, H.M., Mclennan, D., Turk, A., Walker, L.A., Wienburg, C.L. & Burn, A.J. (2006) Did Foot-and-Mouth Disease-Control Operations Affect Rodenticide Exposure in Raptors?. *The Journal of Wildlife Management*, **70(2)**, 588-593.
- Shore, R.F., Malcolm, H.M., Wienburg, C.L., Walker, L.A., Turk, A. & Horne, J.A. (2005) Wildlife and pollution: 2001/02 Annual report. Joint Nature Conservation Committee, **352**, 26 p.

- Shore, R.F., Tosh, D.G., McDonald, R.A., Harrod, C. & Bearhop, B. (2012) Resource use of the red fox (*Vulpes vulpes*), as revealed by stable isotopes, uncovers variation in exposure to anticoagulant rodenticides. In 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin.
- Shore, R.F., Walker, L.A., Buckle, A.P., Chaplow, J.S., Daniels, L.J., Llewellyn, N.R., Pereira, M.G. & Potter, E.D. (2013) Does resistance to second generation anticoagulant rodenticides (SGARs) in rats increase secondary exposure of predators?. In 23rd Annual Meeting of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Glasgow.
- Shore, R.F., Walker, L.A., Pereira, M.G. & Potter, D.E. (2012) What do anticoagulant rodenticide residues in predatory birds and mammals tell us about non-target exposure and risk?. In 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin.
- Sidorovich, V.E., Sidorovich, A.A. & Krasko, D.A. (2010) Effect of felling on red fox (*Vulpes vulpes*) and pine marten (*Martes martes*) diets in transitional mixed forest in Belarus. *Mammalian Biology*, **75**, 399-411.
- Siegel, S. & Castellan, N. (1988) *Non parametric statistics for the behavioral sciences*, 2nd edn. Statistics Series, McGraw-Hill International Editions, New York.
- Simberloff, D. (2009) We can eliminate invasions or live with them. Successful management projects. *Biological Invasions*, **11**, 149-157.
- Singleton, G.R., Belmain, S., Brown, P.R., Aplin, K. & Htwe, N.M. (2010) Impacts of rodent outbreaks on food security in Asia. *Wildlife Research*, **37**, 355-359.
- Singleton, G.R., Belmain, S.R., Brown, P.R. & Hardy, B. (2010) *Rodent outbreaks: Ecology and Impacts*, International Rice Research Institute, Los Banos (Philippines).
- Somsook, S. & Steiner, H.M. (1991) Zur Größe des Aktionsraumes von *Microtus arvalis* (Pallas, 1779). *Z Säugetierkd*, **56**, 200-206.
- Sordello, R. (2012) *Le chat forestier Felis silvestris. Synthèse bibliographique sur les déplacements et les besoins de continuités d'espèces animales*. MNHN-SPN.
- Spurr, E. & Drew, D. (1999) Invertebrates feeding on baits used for vertebrate pest control in New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology*, **23**, 167-173.
- Stenseth, N.C., Leirs, H., Skonhoft, A., Davis, S.A., Pech, R.P., Andreassen, H.P., Singleton, G.R., Lima, M., Machang'u, R.S., Makundi, R.H., Zhang, Z.B., Brown, P.R., Shi, D.Z. & Wan, X.R. (2003) Mice, rats, and people: the bio-economics of agricultural rodent pests. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **1**, 367-375.
- Stockholm Convention (2008) *The 12 initial POPs under the Stockholm Convention*. <http://chm.pops.int/Convention/ThePOPs/The12InitialPOPs/tabid/296/Default.aspx>. Site visité le 14/03/13.
- Stoytcheva, M. (2011) *Pesticides in the modern world – Pesticides use and management*, edn. InTech, Rijeka, Croatia.
- TOXNET (2009) *Warfarin*. Toxicology Data Network, United States National Library, <http://toxnet.nlm.nih.gov>, site consulté le 04/04/2013.

-T-

- TOXNET (2012) *Brodifacoum*. Toxicology Data Network, United States National Library, <http://toxnet.nlm.nih.gov>, site consulté le 04/04/2013.
- Taylor, I.R. (2009) How owls select their prey: a study of Barn Owls *Tyto alba* and their small mammal prey. *Ardea*, **97**, 635-644.
- Thomas, P.J., Mineau, P., Shore, R.F., Champoux, L., Martin, P.A., Wilson, L.K., Fitzgerald, G. & Elliott, J.E. (2011) Second generation anticoagulant rodenticides in predatory birds: Probabilistic characterisation of toxic liver concentrations and implications for predatory bird populations in Canada. *Environmental International*, **37**, 914-920.

- Tobin, M.E. & Fall, M.W. (2004) *Pest control : rodents*. National Wildlife Research Center, U. S. Department of Agriculture, Colorado, USA.
- Tosh, D.G., McDonald, R.A., Bearhop, S., Llewellyn, N.R., Montgomery, W.I. & Shore, R.F. (2012) Rodenticide exposure in wood mouse and house mouse populations on farms and potential secondary risk to predators. *Ecotoxicology*, **21**, 1325-1332.
- Tosh, D.G., McDonald, R.A., Bearhop, S., Llewellyn, N.R., Fee, S., Sharp, E.A., Barnett, E.A. & Shore, R.F. (2011) Does small mammal prey guild affect the exposure of predators to anticoagulant rodenticides?. *Environmental Pollution*, **159**, 3106-3112.
- Tosh, D.G., Shore, R.F., Jess, S., Withers, A., Bearhop, S., Montgomery, W.I. & McDonald, R.A. (2011) User behaviour, best practice and the risks of non-target exposure associated with anticoagulant rodenticide use. *Journal of Environmental Management*, **92**, 1503-1508.
- Towns, D. & Broome, K. (2003) From small Maria to massive Campbell: forty years of rat eradications from New Zealand islands. *New Zealand Journal of Zoology*, **30**, 377-398.
- Towns, D.R., Atkinson, I.A.E. & Daugherty, C.H. (2006) Have the harmful effects of introduced rats on islands been exaggerated?. *Biological Invasions*, **8**, 863-891.
- Townsend, M.G., Entwisle, P. & Hart, A.D.M. (1995) Use of 2 halogenated biphenyls as indicators of non-target exposure during rodenticide treatments. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **54**, 526-533.
- Turner, D.C. & Bateson, P.B. (2000) *The Domestic Cat, the Biology of its Behaviour*, 2nd edn. Cambridge University Press, United Kingdom.

-U-

- U.S. Environmental Protection Agency (2006) *Analysis of Rodenticide Bait Use. Memorandum from Biological Analysis Branch to Registration Branch*. United States Environmental Protection Agency.
- US FDA (2001) *Guidance for Industry. Bioanalytical Method Validation*. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research. Center for Veterinary Medicine. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070107.pdf>.
- United States Environmental Protection Agency (1998) *Registration Eligibility Decision (RED) Rodenticide Cluster. EPA 738-R-98-007*. US EPA WASHINGTON, D.C. 20460.
- United States Environmental Protection Agency (2008) *Risk Mitigation Decision for Ten Rodenticides*. US EPA WASHINGTON, D.C. 20460.

-V-

- Valchev, I., Binev, R., Yordanova, V. & Nikolov, Y. (2008) Anticoagulant rodenticide intoxication in animals - A review. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, **32**, 237-243.
- Vanak, A.T. & Gompper, M.E. (2009) Dogs *Canis familiaris* as carnivores: their role and function in intraguild competition. *Mammal Review*, **39**, 265-283.
- Vandenbroucke, V., Bousquet-Mélou, A., De Backer, P. & Croubels, S. (2008) Pharmacokinetics of eight anticoagulant rodenticides in mice after single oral administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **31**, 437-445.
- Vaniscotte, A., Raoul, F., Poulle, M.L., Romig, T., Dinkel, A., Takahashi, K., Guislain, M.H., Moss, J., Tiaoying, L., Wang, Q., Qiu, J., Craig, P.S. & Giraudoux, P. (2011) Role of dog behaviour and environmental fecal contamination in transmission of *Echinococcus multilocularis* in Tibetan communities. *Parasitology*, **138**, 1316-1329.
- Vein, J., Vey, D., Fourel, I. & Berny, P. (2013) Bioaccumulation of chlorophacinone in strains of rats resistant to anticoagulants. *Pest management science*, **69**, 397-402.

- Vidal, D., Alzaga, V., Luque-Larena, J.J., Mateo, R., Arroyo, L. & Vinuela, J. (2009) Possible interaction between a rodenticide treatment and a pathogen in common vole (*Microtus arvalis*) during a population peak. *Science of the Total Environment*, **408**, 267-271.
- Vidau, C., Diogon, M., Aufauvre, J., Fontbonne, R., Vigues, B., Brunet, J., Texier, C., Biron, D.G., Blot, N., El Alaoui, H., Belzunces, L.P. & Delbac, F. (2011) Exposure to Sublethal Doses of Fipronil and Thiacloprid Highly Increases Mortality of Honeybees Previously Infected by *Nosema ceranae*. *PLOS ONE*, **6**, 1-8.
- Vyas, N.B. & Rattner, B.A. (2012) Critique on the Use of the Standardized Avian Acute Oral Toxicity Test for First Generation Anticoagulant Rodenticides. *Human and Ecological Risk Assessment*, **18**, 1069-1077.
- Vyas, N.B., Hulse, C.S. & Rice, C.P. (2012) Chlorophacinone residues in mammalian prey at a black-tailed prairie dog colony. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **31**, 2513-2516.
- W-**
- Walker, C.H., Hopkin, S.P., Sibly, R.M. & Peakall, D.B. (2006) *Principles of ecotoxicology*, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Walker, L.A., Llewellyn, N.R., Pereira, M.G., Potter, E.D., Molenaar, F.M., Sainsbury, A.W. & Shore, R.F. (2010) *Anticoagulant rodenticides in predatory birds 2007 & 2008: a Predatory Bird Monitoring Scheme (PBMS) report*. Centre for Ecology & Hydrology, Lancaster, UK.
- Walker, L.A., Llewellyn, N.R., Pereira, M.G., Potter, E.D., Sainsbury, A.W. & Shore, R.F. (2010) *Anticoagulant rodenticides in predatory birds 2009: a Predatory Bird Monitoring Scheme (PBMS) report*. Centre for Ecology & Hydrology, Lancaster, UK.
- Walker, L.A., Llewellyn, N.R., Pereira, M.G., Potter, E.D., Sainsbury, A.W. & Shore, R.F. (2012) *Anticoagulant rodenticides in predatory birds 2010: a Predatory Bird Monitoring Scheme (PBMS) report*. Centre for Ecology & Hydrology, Lancaster, UK.
- Walker, L.A., Turk, A., Long, S.M., Wienburg, C.L., Best, J. & Shore, R.F. (2008) Second generation anticoagulant rodenticides in tawny owls (*Strix aluco*) from Great Britain. *Science of The Total Environment*, **392**, 93-98.
- Webbon, C.C., Baker, P.J. & Harris, S. (2004) Faecal density counts for monitoring changes in red fox numbers in rural Britain. *Journal of Applied Ecology*, **41**, 768-779.
- Weber, J.M. (1996) Food selection by adult red foxes *Vulpes vulpes* during a water vole decline. *Wildlife biology*, **2(4)**, 283-288.
- Weber, J.M. & Meia, J.S. (1996) Habitat use by the red fox *Vulpes vulpes* in a mountainous area. *Ethology Ecology & Evolution*, **8**, 223-232.
- Weber, J.M., Aubry, S., Ferrari, N., Fischer, C., Feller, N.L., Meia, J.S. & Meyer, S. (2002) Population changes of different predators during a water vole cycle in a central European mountainous habitat. *Ecography*, **25**, 95-101.
- Webster, K.H. (2009) *Validation of a prothrombin time (PT) assay for assessment of brodifacoum exposure in Japanese quail and Barn owls*. PhD Thesis, Département de Biologie, Université de Burnaby, Canada.
- Winawer, S.J. (2007) Colorectal cancer screening. *Best Practice & Research in Clinical Gastroenterology*, **21**, 1031-1048.
- Winters, A.M. (2006) *Rodenticide use and secondary poisoning risks to non-target wildlife in central Mongolia*. PhD thesis, Michigan State University.
- Winters, A.M., Rumbleiha, W.K., Winterstein, S.R., Fine, A.E., Munkhtsog, B. & Hickling, G.J. (2010) Residues in Brandt's voles (*Microtus brandti*) exposed to bromadiolone-impregnated baits in Mongolia. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **73**, 1071-1077.

- Wood, B.J. & Fee, C.G. (2003) A critical review of the development of rat control in Malaysian agriculture since the 1960s. *Crop Protection*, **22**, 445-461.
- Wood, D.A. & Phillipson, J. (1977) Utilization of poison hoppers designed for grey squirrel (*Sciurus carolinensis* Gmelin) control. *Biological Conservation*, **11**, 119-127.
- Wood, S. (2006) *Generalized Additive Models: An Introduction with R*, 1 edn. Chapman and Hall/CRC, US.
- Wood, S. (2013) *Package gamm4. Version 0.1-6*. <http://cran.r-project.org/>
- World Health Organization (1995) *Anticoagulant Rodenticides - Environmental Health Criteria 175*. International Programme on chemical safety.
- World Health Organization (2008) *Children's Health and the Environment. WHO Training Package for the Health Sector*. www.who.int/ceh.
- World Health Organization (2013) *Toxic hazards*. <http://www.who.int/heli/risks/toxics/chemicals/en/index.html>. Site visité le 14/03/2013.

-Z-

- Zhang, W., Jiang, F. & Ou, J. (2011) Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*, **1(2)**, 125-144.
- Zuur, A.F., Ieno, E.N., Walker, N.J., Saveliev, A.A. & Smith, G.M. (2009) *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*, edn. Springer Science+Business Media LLC, New York.

Résumé étendu

La lutte chimique à base de rodenticides anticoagulants (AVKs) constitue le principal moyen de lutte contre les rongeurs. Ce travail avait 2 objectifs globaux qui étaient 1/ de mieux caractériser le transfert de ces molécules vers le Renard roux et les impacts qui en découlent sur les populations de ce prédateur de rongeurs, 2 / de tester la validité de méthodes de suivi de l'exposition et des effets des AVKs chez ce prédateur. Ces travaux ont été menés dans une situation « biocide » où les AVKs sont principalement utilisés près des bâtiments (lutte rats / souris) et dans une situation « phytopharmaceutique » (PPP) où la bromadiolone (1 AVK) est également utilisée en plein champs pour lutter contre le Campagnol terrestre.

Le 1^{er} objectif était de mieux caractériser la distribution des contaminations aux AVKs dans les communautés de rongeurs dans les 2 contextes d'usage des AVKs. La bromadiolone est la principale molécule retrouvée dans les rongeurs en contexte PPP et, dans un contexte biocide, 5 AVKs sont retrouvés : chlorophacinone, brodifacoum, difénacoum, bromadiolone et diféthialone. L'exposition est maximale chez les espèces ciblées par les traitements (en particulier rats et Campagnol terrestre), ou des espèces au mode de vie similaire, à proximité des traitements AVKs. Dans un contexte PPP les espèces de rongeurs prairiaux (Campagnol terrestre et Campagnol des champs) sont exposées plus fréquemment et/ou à de plus hauts niveaux de concentration que dans un contexte biocide.

Le 2^e objectif visait à évaluer les possibilités d'utiliser une mesure d'exposition non invasive basée sur la mesure des résidus d'AVKs dans les fèces pour identifier les facteurs de contrôle de l'exposition du renard à ces molécules. D'après des tests génétiques ; 78 % des fèces collectées et dont l'ADN a pu être amplifié étaient des fèces de renard. Dans un contexte biocide, les AVKs sont, en lien avec la contamination des proies préférentielles du renard (les campagnols prairiaux), moins retrouvés dans les fèces que dans un contexte PPP. Les espèces exposées aux AVKs sont le chien dans un contexte biocide et le renard et les chats forestier et /ou domestique dans un contexte PPP. Toutes les fèces positives contenaient de la bromadiolone sauf 1 (contexte biocide) qui contenait de la chlorophacinone. La présence de bromadiolone dans les fèces collectées en secteur PPP était dépendante de la surface traitée dans un rayon d'1 km autour du point de collecte de la fèces.

Le 3^e objectif était de tester les possibilités d'utiliser les tests Hemocult II dans les fèces de renard pour détecter le sang hémorragique lié à une intoxication aux AVKs. Ces tests se sont révélés inadaptés en raison de l'interférence avec le sang des rongeurs ingérés.

Le 4^e objectif visait à évaluer l'impact des traitements PPP à la bromadiolone sur les populations de Renard roux. Avec une résolution communale et sur l'ensemble du département du Doubs, les quantités d'appâts utilisées (années 2003 à 2008) ont été mises en relation avec les densités indiciaires de renard (années 2004 à 2009). Nous avons mis en évidence que les densités de renard mesurées le printemps d'une année n diminuent avec l'augmentation des quantités d'appâts utilisées les années $n-1$ et $n-2$. La mise en place progressive d'une lutte intégrée contre le Campagnol terrestre pendant la période suivie s'est traduite par une diminution des quantités de rodenticides utilisées et donc par une diminution des impacts sur les densités de renards.

Ces travaux apportent des bases pour la mise en place de dispositifs de suivis à large échelle de l'exposition et des effets des AVKs chez les prédateurs et cela dans les 2 contextes d'usage des rodenticides (PPP/ biocide).

Usage des rodenticides anticoagulants et conséquences en termes d'exposition et d'impact pour les populations de renard roux

Résumé

Les rodenticides anticoagulants (RA) constituent le principal moyen de lutte contre les rongeurs. L'exposition aux RA du renard roux et l'impact des RA sur les populations de ce prédateur sont étudiés. En France, on distingue un contexte « biocide » (BCD) où les RA sont principalement utilisés près des bâtiments et un contexte « phytopharmaceutique » (PP) où la bromadiolone (un RA) est également utilisée en plein champs contre le campagnol terrestre. La contamination des rongeurs aux RA est mesurée : 5 RA sont détectés en contexte BCD alors que la bromadiolone est la molécule majoritaire en contexte PP ; les espèces de rongeurs non ciblées par les RA étant exposées dans les 2 contextes. L'exposition est maximale chez les espèces ciblées ou celles au mode de vie similaire. L'exposition du renard est évaluée par la mesure des résidus de RA dans des fèces collectées *in situ*. La bromadiolone est retrouvée dans 97 % des fèces positives et les RA sont plus retrouvés dans les fèces en cas de traitements PP. En contexte PP, le ratio de fèces positives augmente non linéairement avec la surface traitée dans un rayon d'1 km autour des fèces. L'impact des traitements PP sur les populations de renards est évalué (période 2003-2009, département du Doubs). Les indices d'abondance de renard mesurés sur une commune le printemps d'une année n diminuent avec l'augmentation des quantités d'appâts utilisées les années $n-1$ et $n-2$. Pendant la période suivie, la mise en place d'une lutte intégrée contre le campagnol terrestre s'est traduite par une diminution des quantités d'AR utilisées et donc par une diminution des impacts sur les populations de renards.

Mots clés :

Biocide, lutte intégrée, phytopharmaceutique, suivis écotoxicologiques, relations proies-prédateurs, rodenticide anticoagulant AVK, rongeurs, transfert.

Use of anticoagulant rodenticides and consequences on exposure and impact for red fox populations

Abstract

Rodents are mainly controlled with anticoagulant rodenticides (AR). AR exposure and impact were studied for red fox populations. In France, we distinguish 2 contexts of AR use: "biocide" (BCD) where AR are used next to buildings and "phytopharmaceutical" (PP) where bromadiolone (an AR) is also applied in the field against the water vole. Rodent contamination to AR was characterized: 5 different AR were detected in rodents in the BCD context while bromadiolone was predominantly found in the PP context; non target rodents being exposed in both contexts. AR contamination was the highest for target species or species with similar lifestyle. Red fox exposure was assessed through the measurement of AR residues in faeces sampled in the field. ARs were detected more frequently where PP treatments occurred. Every positive faeces contained only bromadiolone except one (BCD context) with chlorophacinone. In PP context, the ratio of positive faeces varied non-linearly with the area of PP treatments within a 1km-radius around faeces. The impact of bromadiolone PP treatments on red fox populations was assessed (period 2003–2009, Doubs department). Kilometric Abundance Index of foxes measured a year n decreased with higher treatment intensities the years $n-1$ and $n-2$. Moreover we have shown that a shift to preventive treatments with reduced AR use is less harmful to fox populations.

Keywords:

Anticoagulant rodenticide AVK, biocide, ecotoxicological monitorings, integrated pest management, phytopharmaceutical, predator-preys relationships, rodents, transfer.